

**UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA  
SEDE QUITO, CAMPUS SUR**

**CARRERA: INGENIERÍA AMBIENTAL**

**Tesis previa a la obtención del Título de: Ingeniero Ambiental**

**ESTUDIO PARA TRATAMIENTOS DE BIORREMEDIACIÓN DE  
SUELOS CONTAMINADOS CON PLOMO, UTILIZANDO EL  
MÉTODO DE FITORREMEDIACIÓN**

**AUTOR: SARA MARÍA BONILLA VALENCIA**

**DIRECTORA: ING. ELENA COYAGO**

**Quito, Mayo del 2013**

© Universidad Politécnica Salesiana (2013)  
Reservados todos los derechos de reproducción

## DECLARACIÓN

Yo, Sara María Bonilla Valencia, declaro que el trabajo aquí descrito es de mi autoría; que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional; y, que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

La Universidad Politécnica Salesiana puede hacer uso de los derechos correspondientes a este trabajo, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, por su Reglamento y por la normativa institucional vigente.

---

Sara María Bonilla Valencia

## **CERTIFICACIÓN**

Certifico que el presente trabajo fue desarrollado por Sara María Bonilla Valencia, bajo mi supervisión.

---

Ing. Elena Coyago  
**DIRECTORA DE PROYECTO**

## **AGRADECIMIENTOS**

A mis padres quienes con su sabiduría has hecho posible cumplir uno de mis sueños y su por su esfuerzo para que nunca me falta nada.

A mi hermano por darme siempre animo en todos los momentos.

A mi esposo y compañero de vida que siempre ha estado a mi lado para apoyarme en cada una de las etapas de mi vida.

A mi directora del proyecto Ing. Elena Coyago por compartir sus conocimientos y su apoyo durante el transcurso del proyecto.

A cada uno de mis profesores que durante la carrera universitaria aportaron con su conocimiento para nuestro desarrollo profesional.

A cada uno de mis compañeros y amigas Luci, Cris, Iri, Made y en especial Angélica mi gran amiga, con quienes compartimos grandes experiencias y momentos inolvidables y con su compañía hicieron más amena la vida universitaria.

A todas las personas que de uno u otra manera, me han ayudado para el desarrollo y culminación de mi proyecto, para ellos mis más sinceros agradecimientos.

## **DEDICATORIA**

A mis padres, mi hermano y mi esposo por el apoyo incondicional que siempre me han dado, por su preocupación en todos los momentos de mi vida y principalmente por sus muestras de cariño y comprensión que me dan día a día.

## ÍNDICE DE CONTENIDOS

<b>ÍNDICE DE CONTENIDOS</b> .....	i
<b>ÍNDICE DE TABLAS</b> .....	iii
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b> .....	iv
<b>ÍNDICE DE ANEXOS</b> .....	vii
<b>GLOSARIO DE SIGLAS</b> .....	viii
<b>UNIDADES</b> .....	ix
<b>GLOSARIO DE TÉRMINOS</b> .....	x
<b>RESUMEN</b> .....	xii
<b>ABSTRACT</b> .....	xiii
 <b>INTRODUCCIÓN</b> .....	 1
 <b>CAPITULO I</b> .....	 2
1.1 METALES PESADOS EN EL AMBIENTE .....	2
1.2 EFECTOS DE LOS METALES PESADOS EN EL SUELO .....	5
1.3 MOVILIZACIÓN DE LOS METALES PESADOS EN EL SUELO .....	6
1.4 PLOMO .....	8
1.4.1 EFECTOS DEL PLOMO EN LA SALUD .....	9
1.4.2 EFECTOS DEL PLOMO EN EL AMBIENTE .....	12
1.5 BIORREMEDIACIÓN.....	13
1.6 FITORREMEDIACIÓN.....	15
1.6.1 MECANISMOS DE LA FITORREMEDIACIÓN.....	20
1.6.2 FASES DE LA FITORREMEDIACIÓN.....	22
1.7 NORNATIVA AMBIENTAL .....	24
1.8 TÉCNICAS DE CUANTIFICACIÓN DE METALES PESADOS.....	25
1.8.1 ESPECTROMETRÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA POR LLAMA.....	26
 <b>CAPÍTULO II: MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	 28
2.1 SELECCIÓN DE ESPECIES UTILIZADAS PARA LA REMOCIÓN DE PLOMO POR FITORREMEDIACIÓN EN SUELOS CONTAMINADOS.....	28

2.2 CONSTRUCCIÓN DE SEMILLEROS .....	28
2.3 EXPOSICIÓN DE PLANTAS SELECCIONADAS A SUELOS CON DIFERENTES CONCENTRACIONES DE PLOMO.....	29
2.4 CUANTIFICACIÓN DE PLOMO UTILIZANDO LA TÉCNICA DE ABSORCIÓN ATÓMICA.....	29
<b>CAPÍTULO III: RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>31</b>
3.1 SELECCIÓN DE ESPECIES UTILIZADAS PARA LA REMOCIÓN DE PLOMO POR FITORREMEDIACIÓN EN SUELOS CONTAMINADOS.....	31
3.2 CONSTRUCCIÓN DE SEMILLEROS .....	32
3.3 EXPOSICIÓN DE PLANTAS SELECCIONADAS A SUELOS CON DIFERENTES CONCENTRACIONES DE PLOMO.....	40
3.4 CUANTIFICACIÓN DE PLOMO UTILIZANDO LA TÉCNICA DE ABSORCIÓN ATÓMICA.....	44
3.4.1 CUANTIFICACIÓN DE PLOMO DE LAS DIFERENTES ESPECIES UTILIZANDO LA TÉCNICA DE ESPECTROFOTOMETRÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA.....	45
3.4.2 CUANTIFICACIÓN DE PLANTAS GERMINADAS EN SEMILLEROS SIN ADICIÓN DE ABONO.....	49
3.4.3 CUANTIFICACIÓN DE PLANTAS GERMINADAS CON ABONO .....	52
3.5 ANÁLISIS DE SUELOS REMEDIADOS .....	65
<b>CAPÍTULO IV.....</b>	<b>69</b>
4.1 CONCLUSIONES.....	69
4.2 RECOMENDACIONES.....	71
<b>BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>72</b>



## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.1:</b> Especies utilizadas para la Fitorremediación.....	16
<b>Tabla 3.1</b> Medidas de sustrato utilizadas .....	42
<b>Tabla 3.2</b> Método analítico empleado por el laboratorio.....	46
<b>Tabla 3.3</b> Concentración de plomo en plantas de amaranto de semillero sin abono.....	50
<b>Tabla 3.4</b> Concentración de plomo en plantas de alfalfa de semillero sin abono.....	51
<b>Tabla 3.5</b> Resultados obtenidos de las plantas de acelga sin abono en el semillero.....	52
<b>Tabla 3.6</b> Resultados obtenidos de las plantas de amaranto con abono en el semillero .....	53
<b>Tabla 3.7</b> Resultados obtenidos de las plantas de alfalfa con abono en el semillero .....	54
<b>Tabla 3.8</b> Resultados obtenidos de las plantas de acelga con abono en la germinación.....	55
<b>Tabla 3.9:</b> Porcentajes de absorción de Pb en suelos .....	67
<b>Tabla 3.10:</b> Cultivos necesarios para cumplir con la norma .....	68

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.1:</b> Transporte y dispersión de contaminantes desde el suelo al agua y al aire. ....	3
<b>Figura 1.2:</b> Dinámica de metales pesados en el suelo .....	7
<b>Figura 1.3:</b> Plomo.....	9
<b>Figura 1.4:</b> Rutas de contaminación humana por Pb.....	10
<b>Figura 1.5:</b> Acumulación de plomo en piezas dentales.....	11
<b>Figura 1.6:</b> Fuentes de plomo en el ambiente.....	12
<b>Figura 1.7:</b> Ejemplo de técnicas de remediación que asocian adsorción y biodegradación de contaminantes orgánicos.....	14
<b>Figura 1.8:</b> Mecanismos de fitorremediación .....	22
<b>Figura 1.9:</b> Esquema de la llama del espectrómetro de absorción atómica.....	27
<b>Figura 3.1:</b> Fundas utilizadas para semilleros.....	33
<b>Figura 3.2:</b> Ubicación geográfica del proyecto.....	33
<b>Figura 3.3:</b> Tierra utilizada para semilleros.....	34
<b>Figura 3.4:</b> Ubicación geográfica Miraflores .....	34
<b>Figura 3.5:</b> Amaranto alegría.....	35
<b>Figura 3.6:</b> Planta de alfalfa.....	36
<b>Figura 3.7:</b> Planta de acelga .....	37
<b>Figura 3.8:</b> Semillas certificadas.....	37
<b>Figura 3.9:</b> Semilleros.....	38
<b>Figura 3.10:</b> Germinación de plantas .....	38
<b>Figura 3.11</b> Germinación de las plantas de Alfalfa .....	39
<b>Figura 3.12</b> Germinación de las plantas de Acelga .....	39
<b>Figura 3.13</b> Germinación de las plantas de Acelga .....	40
<b>Figura 3.14:</b> Recipientes plásticos utilizados para construir semilleros .....	40
<b>Figura 3.15:</b> Ceniza de plomo .....	41
<b>Figura 3.16:</b> Homogenización de suelo contaminado con plomo.....	41
<b>Figura 3.17:</b> Suelos preparados .....	42
<b>Figura 3.18:</b> Plantas óptimas para el trasplante.....	43
<b>Figura 3.19:</b> Plantas germinadas en Pilvixa.....	43
<b>Figura 3.20:</b> Riego suministrado a las plantas .....	44

<b>Figura 3.21:</b> Planta de alfalfa enviada para análisis .....	45
<b>Figura 3.22</b> Diagrama de proceso para la cuantificación de plomo por absorción atómica .....	46
<b>Figura 3.23:</b> Lavado y secado de las plantas.....	47
<b>Figura 3.24:</b> Proceso de digestión .....	47
<b>Figura 3.25:</b> Muestra digestada.....	48
<b>Figura 3.26:</b> Lectura de las muestras en el equipo de AA.....	49
<b>Figura 3.27</b> Plantas de amaranto, alfalfa y acelga crecidas en semillero sin abono.....	49
<b>Figura 3.28:</b> Concentración de plomo en plantas de amaranto de semillero sin abono a diferentes días de exposición.....	50
<b>Figura 3.29:</b> Concentración de plomo en plantas de alfalfa de semillero sin abono a diferentes días de exposición.....	51
<b>Figura 3.30:</b> Concentración de plomo en plantas de acelga de semilleros sin abono a diferentes días de exposición .....	52
<b>Figura 3.31:</b> Concentración de plomo en plantas de amaranto, de semillero con abono a diferentes días de exposición.....	54
<b>Figura 3.32:</b> Resultados obtenidos de la Alfalfa con abono .....	55
<b>Figura 3.33:</b> Resultados obtenidos de la Acelga con abono .....	56
<b>Figura 3.34:</b> Exposición de amaranto a suelos contaminados con Pb, con y sin adición de abono .....	57
<b>Figura 3.35:</b> Exposición de alfalfa a suelos contaminados con Pb, con y sin adición de abono.....	59
<b>Figura 3.36:</b> Exposición de acelga a suelos contaminados con Pb, con y sin adición de abono.....	60
<b>Figura 3.37:</b> Plantas expuestas a diferentes concentraciones de contaminación con Pb, sin presencia de abono .....	62
<b>Figura 3.38:</b> Comparación de plantas sin abono a diferentes concentraciones de contaminación en función de los días de exposición.....	61
<b>Figura 3.39:</b> Plantas expuestas a diferentes concentraciones de contaminación con Pb, con presencia de abono .....	64
<b>Figura 3.40:</b> Comparación de plantas con abono a diferentes concentraciones de contaminación en función de los días de exposición.....	63
<b>Figura 3.41:</b> Resultados de Absorción del Amaranto.....	65

<b>Figura 3.42</b> Resultados de Absorción de la Alfalfa.....	66
<b>Figura 3.43</b> Resultados de Absorción de la Acelga.....	67

## ÍNDICE DE ANEXOS

**Anexo 1:** Certificado de Acreditación por el OAE del laboratorio Corplab.

**Anexo 2:** Cadenas de Custodia de los análisis realizados.

**Anexo 3:** Resultados de los Análisis Realizados.

**Anexo 4:** Reporte de la incertidumbre del método.

## GLOSARIO DE SIGLAS

<b>C</b>	Concentración
<b>EPA</b>	Agencia de Protección Ambiental
<b>EU</b>	Unión Europea
<b>IARC</b>	Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer
<b>INIAP</b>	Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias.
<b>m.s.n.m</b>	Metros sobre el nivel del mar
<b>OMS</b>	Organización Mundial de la Salud
<b>OSHA</b>	Administración de seguridad y salud ocupacional
<b>Pb</b>	Plomo
<b>pH</b>	Potencial de Hidrógeno
<b>p/p</b>	Concentración peso/peso
<b>TULSMA</b>	Texto Unificado de Legislación Secundaria del Ministerio del Ambiente

## UNIDADES

°C	grados centígrados
dl	decilitros
g	gramo
kg	kilogramo
L	litro
Mg	miligramo
Mm	milimetro
m <sup>3</sup>	metro cúbico
ppb	partes por billón
ppm	partes por millón
µg	microgramos
µm	micrometros

## GLOSARIO DE TÉRMINOS

**Adsorción** Proceso en el cual los iones y moléculas presentes en una fase tienden a condensarse y concentrarse en la superficie de otra fase. (TULSMA Libro IV)

**Atmósfera** Es una capa gaseosa de aproximadamente 10.000 km de espesor que rodea la litosfera e hidrosfera. Está compuesta de gases y de partículas sólidas y líquidas en suspensión atraídas por la gravedad terrestre. En ella se producen todos los fenómenos climáticos y meteorológicos que afectan al planeta, regula la entrada y salidos de energía de la tierra y es el principal medio de transferencia del calor.

**Biodegradación** Proceso de descomposición de un producto o una sustancia por acción de organismos vivientes.

**Biorremediación** La EPA define biorremediación como la manipulación de sistemas biológicos para efectuar cambios en el ambiente.

**Contaminación** Es la presencia en el ambiente de uno o más contaminantes o de cualquier combinación de ellas, en concentraciones y permanencia superiores o inferiores a las establecidas en la legislación vigente. (TULSMA Anexo 6)

**Deflación** Conocida como erosión eólica es la pérdida del suelo debido al efecto erosivo del viento, el consiguiente arrastre de los materiales edáficos arrancados.

**Degradación** pérdida de las características físicas, químicas y biológicas de un suelo en medio natural. (TULSMA Libro IV)

**Erosión** Desgaste de la superficie de la tierra por acción del viento, agua, prácticas agropecuarias, residencial o desarrollo industrial, construcción de carreteras o transporte. (TULSMA Libro IV)

**Ex situ** Tratamiento de los elementos contaminados fuera del área de afectación.

**Fitorremediación** Es la utilización de plantas y sus microorganismos asociados para el tratamiento in situ de suelos contaminados.

**In situ** Tratamiento de los elementos contaminados en el sitio de afectación.

**Lixiviado** Líquido que percola a través de los residuos, formado por el agua proveniente de precipitaciones, pluviales o escorrentías. El lixiviado puede provenir además de la humedad de los residuos, por reacción o descomposición de los mismos y que arrastra sólidos disueltos o en



suspensión y contaminantes que se encuentran en los mismos residuos. (TULSMA Libro IV)

**Metales pesados** Metales de número atómico elevado, como cadmio, fierro, manganeso, mercurio, níquel, plomo y zinc, entre otros, que son tóxicos en concentraciones reducidas y tienden a la bioacumulación. (TULSMA Anexo 1)

**Nivel Freático** Altura que alcanza la capa acuífera subterránea más superficial. El nivel freático del Suelos es la altura de un punto, con respecto a un nivel de referencia, donde las aguas subterráneas tienen una presión igual a la atmosférica.

**Plántulas** Embrión de una planta que se desarrolla a partir de la germinación de la semilla.

**Plomo:** Es un metal pesado.

**Raíz Pivotante** Es el sistema radical que presenta un raíz primaria o principal más desarrollada que las raíces secundarias. Es la Raíz robusta que crece habitualmente en línea recta hacia abajo a partir de la base de la planta.

**Suelo** medios porosos formados en la superficie terrestre mediante el proceso de meteorización durante largos períodos, aportados por los fenómenos biológicos, geológicos e hidrológicos. Los suelos se consideran como sistemas biogeoquímicos multicomponentes y abiertos, están sometidos a los flujos de masa y energía con la atmósfera, la biosfera y la hidrósfera, su composición es altamente variable y también cambia con el tiempo. (TULSMA Libro IV)

**Toxicidad** Se considera tóxica a una sustancia o materia cuando debido a su cantidad, concentración o características físico, químicas o infecciosas presenta el potencial de:

- a) Causar o contribuir de modo significativo al aumento de la mortalidad, al aumento de enfermedades graves de carácter irreversible o a las incapacitaciones reversibles.
- b) Que presente un riesgo para la salud humana o para el ambiente al ser tratados, almacenados, transportados o eliminados de forma inadecuada.
- c) Que presente un riesgo cuando un organismo se expone o está en contacto con la sustancia tóxica. (TULSMA Anexo 1)

## RESUMEN

El presente trabajo de investigación evalúa la capacidad de tres especies vegetales Amaranto, Acelga y Alfalfa para absorción de plomo en suelos contaminados utilizando la técnica de fitorremediación. Las plantas se desarrollaron en semilleros, para luego ser trasplantadas a una matriz de suelos contaminados con plomo. La germinación de las mismas se dio bajo dos condiciones: Germinación de las semillas en el invernadero sin la adición de abonos o nutrientes para su crecimiento y Germinación de semillas en una empresa especialista en esta actividad (Pilvixa) en la cual al momento del crecimiento de las especies se realizó la adición de abonos orgánicos y nutrientes para su crecimiento.

Para la cuantificación de plomo se uso la técnica de absorción atómica por llama. Las mediciones se realizaron a los suelos iniciales sin contaminación, suelos contaminados, a los 20, 30, 45, 60 y 90 días de exposición de las especies en el suelo contaminado y al suelo final fitorremediado.

Las tres variedades de plantas en estudio que fueron expuestas a abono orgánico durante la germinación en semillero presentaron mayor absorción que las plantas que no tuvieron adición de ningún tipo de abono. Con los resultados obtenidos se determinó el número de cultivos que se necesitan para alcanzar las concentraciones establecidas por la Tabla 3, Anexo 2, libro 6 del TULSMA (100 mg/Kg).

## ABSTRAC

The present research evaluated the ability of three plant species Amaranth, Beets and Alfalfa for lead absorption in contaminated soil using phytoremediation technique. Plants were grown in nurseries and then transplanted into a matrix of lead-contaminated soils. The germination of the same was given under two conditions: Seed germination in the greenhouse without the addition of fertilizers and nutrients for growth and germination of seeds in a company that specializes in this activity (Plivixa) in which growth when species was performed the addition of organic fertilizers and nutrients for growth.

For quantification of lead technique using flame atomic absorption. The measurements were performed at initial uncontaminated soils, contaminated soils, at 20, 30, 45, 60 and 90 days of exposure of the species in the contaminated soil and soil Phytoremediation end.

The three varieties of plants were exposed to study organic fertilizer during seed germination showed higher uptake than plants that were not adding any fertilizer. With the results, we determined the number of crops that are needed to achieve the concentrations established by Table 3, Annex 2, Book 6 of TULSMA (100 mg / kg).

## INTRODUCCIÓN

La utilización de metales pesados en la industria es altamente difundida, por lo que se ha desarrollado un grave problema de contaminación de los suelos, agua, y por medio de estos llegar a afectar al hombre.

Los niveles de contaminación y su impacto en las diferentes áreas demandan nuevas alternativas para la reducción de los niveles de contaminación.

Por lo cual es importante que estas alternativas mantengan las condiciones físicas y biológicas del suelo.

Por lo cual se ha utilizado varias especies para el proceso de Fitorremediación de suelos contaminados con metales pesados. Ya que este grupo de fitotecnologías reúne un gran número de ventajas, especialmente la limpieza y la economía; no utilizan reactivos químicos, ni afectan negativamente a la estructura del suelo, sólo aplican prácticas agrícolas comunes.

El objetivo de este proyecto fue evaluar la capacidad de *Amaranto Hybridus* (Amaranto), *Beta Vulgaris* (acelga) y *Medicago Sativa* (alfalfa), en la Fitoextracción de plomo en suelos contaminados.

Con análisis y pruebas realizadas en el laboratorio se determinará las mejores especies de plantas para que la biorremediación sea efectiva, y los aspectos técnicos a ser tomados en cuenta para la aplicación de la biorremediación.

La remoción del plomo será cuantificada por espectrofotometría de absorción atómica, que es un método instrumental, capaz de detectar y determinar cuantitativamente la mayoría de los elementos del Sistema Periódico.

## CAPITULO I

### 1.1 METALES PESADOS EN EL AMBIENTE

Se denominan metales pesados a aquellos elementos químicos que poseen un peso atómico comprendido entre 63.55 (Cu) y 200.59 (Hg), y presentan un peso específico superior a 4 (g/cm<sup>3</sup>), como el plomo (Pb), cadmio (Cd), cromo (Cr), mercurio (Hg), zinc (Zn), cobre (Cu), plata (Ag) y Arsénico (As) y en altas concentraciones pueden resultar tóxicos para los seres vivos, tales como humanos, organismos del suelo, plantas y animales (Rodríguez-Ortíz, y otros, 2006)

Los metales pesados han sido ampliamente utilizados en muchas actividades, tales como la agricultura, la minería, la fundición, la galvanoplastia y el refinado del oro (Rodríguez-Ortíz, y otros, 2006)

Los metales pesados se clasifican en:

**A) Oligoelementos o Micronutrientes.-** Requeridos en pequeñas cantidades o trazas por plantas y animales, y son necesarios para que los organismos completen su ciclo vital, convirtiéndose en tóxicos cuando pasan cierto umbral; dentro de este grupo se encuentra: arsénico (As), bromo (Br), cobalto (Co), cromo (Cr), molibdeno (Mo), manganeso (Mn), níquel (Ni), selenio (Se), zinc (Zn) (Nedelkoska & Doran, 2000).

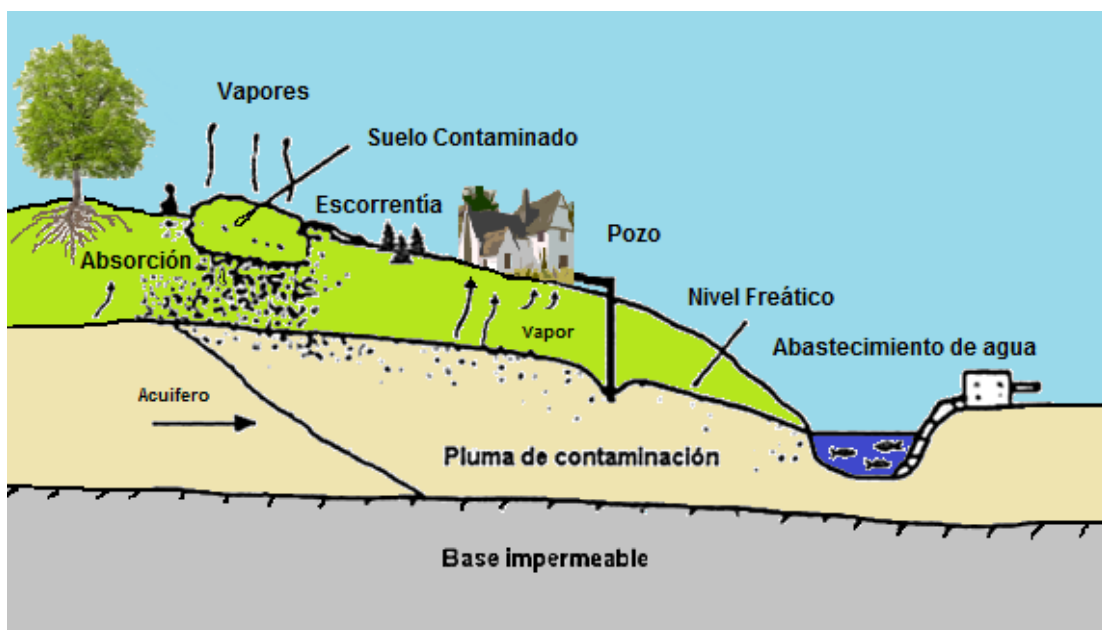
**B) Metales pesados sin función biológica conocida.-** La presencia en seres vivos en determinadas cantidades lleva a disfunciones en los organismos y en concentraciones altas, resultan altamente tóxicos, presentando la propiedad de acumularse en los organismos vivos, dentro de este grupo se encuentra: cadmio (Cd), mercurio (Hg), plomo (Pb), cobre (Cu), antimonio (Sb), bismuto (Bi) (Maqueda, 2003)

Los metales pesados y en general todas las sustancias químicas no presentan toxicidad completa, esta característica está definida por la

concentración en la que se presenta en un medio determinado y el tipo de compuestos que forman.

Una sustancia se convierte en un contaminante cuando se encuentra en concentraciones mayores de las normales y en general tienen un efecto adverso sobre algunos organismos; estas sustancias pueden ser transformadas por los seres vivos es decir biodegradarse o pueden permanecer de forma indefinida y no biodegradarse.

Los contaminantes del suelo, tienen un tiempo de residencia alto y los contaminantes del aire y agua contribuyen al incremento de la concentración (Bautista, 2000) como se muestra en la Figura 1.1.



**Figura 1.1:** Transporte y dispersión de contaminantes desde el suelo al agua y al aire.

Fuente: (Ruda, Mongiello, & Acosta, 2004)

Los suelos se pueden contaminar de diferentes formas:

- Superficial: vertiendo residuos sólidos o líquidos de forma accidental o voluntaria sobre el suelo.

- Subterránea: enterrando residuos debido al aprovechamiento de escombreras, zanjas, canteras abandonadas entre otras.
- Difusa: utilizando concentraciones bajas pero grandes volúmenes que contienen al contaminante, así por ejemplo los márgenes de las carreteras, áreas agrarias, etc.
- Puntual: contaminación focalizada, con un núcleo emisor del cual pueden movilizarse los contaminantes a otros elementos del medio (Ruda, Mongiello, & Acosta, 2004).

Los contaminantes del suelo presentan diferentes grados de movilidad así el Pb, As, Sb, Zn, Cr, entre otros, tienen una movilidad alta, existiendo la posibilidad de contaminación de extensas áreas de suelo (Bureau-Veritas, 2008).

Los contaminantes del suelo según el origen pueden ser geogénicos o antropogénicos.

- Los geogénicos pueden proceder de la propia roca madre en la que se formó el suelo, de la actividad volcánica o del lixiviado de mineralizaciones, así se puede encontrar Pb en los minerales primarios sulfurosos como la pirita ( $\text{FeS}_2$ ) y en los minerales secundarios como el óxido de manganeso y el carbonato de calcio (Bautista, 2000; Díez, Kidd, & Monterroso, 2009).
- Los antropogénicos se producen por los residuos peligrosos derivados de actividades industriales, agrícolas, mineras, etc. y de los residuos sólidos urbanos, encontrándose Pb en lodos residuales, riego, fundidoras, plaguicidas, fertilizantes, minas, automóviles, pinturas, carbonatos y combustión de carbón (Bautista, 2000).

Los metales pesados contribuyen fuertemente a la contaminación ambiental y la disponibilidad depende del pH, el contenido de arcillas, contenido de materia

orgánica, la capacidad de intercambio catiónico y otras propiedades. (Sauve & Henderson, 2000)

La acumulación de metales pesados en las plantas inhibe o activa algunos procesos enzimáticos que afectan su productividad, así por ejemplo el Pb, As, Cd, Zn pueden ser absorbidos y depositarse en sus tejidos a niveles tóxicos, dando como resultado una posible vía de entrada de estos metales en la cadena alimenticia, a través del consumo de plantas, directa o indirectamente por los seres humanos.

Las principales fuentes de metales pesados están constituidas por actividades naturales, como desgastes de cerros y volcanes que constituyen una fuente relevante de metales pesados en el suelo y encontrándose como iones libres, compuestos metálicos solubles, compuestos insolubles como óxidos, carbonatos e hidróxidos (Pineda, 2004). Así también en actividades antropogénicas como la industria minera que está catalogada como una de las actividades industriales más generadoras de metales pesados.

## **1.2 EFECTOS DE LOS METALES PESADOS EN EL SUELO**

El suelo es el receptor de la mayor parte de los residuos generados por el hombre, produciendo su contaminación y transmitiendo a otros recursos como las aguas subterráneas o a las cadenas tróficas, a través de su captación por las plantas.

Cuando el contenido de metales pesados en el suelo alcanza niveles que rebasan los límites máximos permitidos, causan efectos inmediatos como inhibición del crecimiento normal en las plantas y disturbios funcionales en otros componentes del ambiente, así como la disminución de las poblaciones microbianas del suelo; este tipo de contaminación se conoce como “polución de suelos”. (Martín, 2000).

La acción directa de los metales pesados sobre los seres vivos ocurre a través del bloqueo de las actividades biológicas, es decir, la inactivación enzimática



por la formación de enlaces entre el metal y los grupos –SH (sulfhidrilos) de las proteínas, causando daños irreversibles en los diferentes organismos.

El pH de los suelos es un factor esencial, ya que la mayoría de los metales tienden a estar más disponibles en medios ácidos excepto As, Mo, Se y Cr, los cuales están disponibles en medios alcalinos. Por tanto la adsorción de los metales pesados está fuertemente condicionada por el pH del suelo.

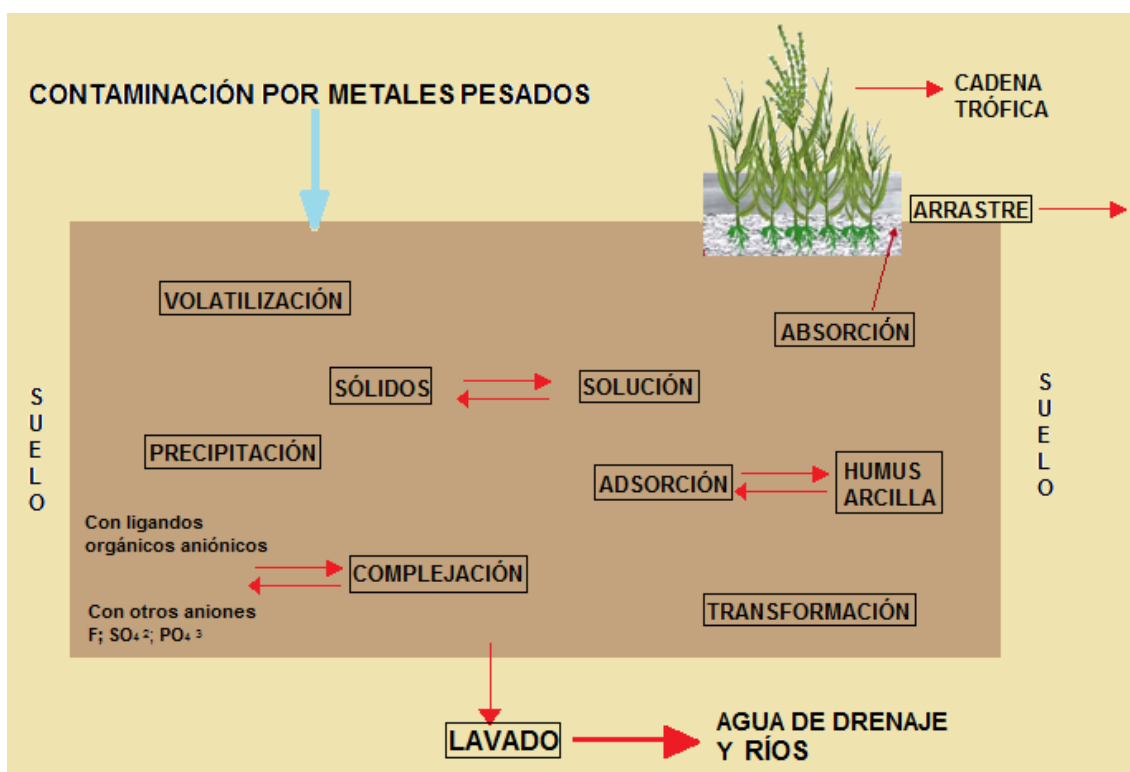
La característica de los suelos favorece la entrada e infiltración de la contaminación de metales pesados, por ejemplo la arcilla tiende a adsorber metales pesados que quedan retenidos en sus posiciones de cambio, por el contrario los suelos arenosos carecen de capacidad de fijación pasando rápidamente al subsuelo y contaminando los niveles freáticos. (Pineda, 2004)

### **1.3 MOVILIZACIÓN DE LOS METALES PESADOS EN EL SUELO**

Los metales pesados en los suelos se redistribuyen y reparten lentamente entre los componentes de la fase sólida. Dicha redistribución se caracteriza por una rápida retención inicial y posteriores reacciones lentas, dependiendo del metal, propiedades del suelo, nivel de introducción y tiempo. (Han, 2003).

La Figura 1.2 muestra las cuatro formas de distribución de los metales pesados incorporados en el suelo:

- 1) Retención en el suelo debido a la disolución o fijación por procesos de adsorción, formación de complejos o precipitación.
- 2) Absorción por las plantas e incorporación de las cadenas tróficas.
- 3) Volatilización y paso a la atmósfera.
- 4) Movilización hacia las aguas superficiales o subterráneas (Cruz & Guzmán, 2007)



**Figura 1.2:** Dinámica de metales pesados en el suelo

Fuente: (Cruz & Guzmán, 2007)

Los metales pesados existentes en el suelo, pueden ser retenidos o movilizados del suelo mediante diferentes mecanismos biológicos y químicos como pH, potencial redox, composición iónica del suelo, presencia de carbonatos y materia orgánica así como la naturaleza de la contaminación (origen de los metales y forma de deposición) y condiciones ambientales (acidificación, variación de temperatura y humedad). (Sauquillo, 2003)

En general, la movilidad de los metales pesados es muy baja, quedando acumulados en los primeros centímetros del suelo, siendo lixiviados a los horizontes inferiores en muy pequeñas cantidades. La disponibilidad de un elemento depende también de las características del suelo en donde se encuentra.

Los metales pesados existentes en el suelo pueden seguir diferentes vías:

- Quedar retenidos en el suelo, ya sea disueltos en la fase acuosa del suelo, u ocupando sitios de intercambio o específicamente adsorbidos sobre constituyentes inorgánicos del suelo.
- Asociados con la materia orgánica del suelo y/o precipitados como sólidos puros o mixtos.
- Pueden ser absorbidos por las plantas y así incorporarse a las cadenas tróficas.
- Pasan a la atmósfera por volatilización y se movilizan a las aguas superficiales o subterráneas. (García & Dorronsoro, 2005)

La toxicidad de los metales depende no sólo de su concentración, sino también de su movilidad y reactividad con otros componentes del ecosistema. (Abollino, y otros, 2002) El plomo es un compuesto que no se degrada en otros subproductos, se acumula progresivamente cuando es vertido a la atmósfera causando desequilibrio en los ecosistemas

## 1.4 PLOMO

Es un elemento químico cuya nomenclatura es Pb, de número atómico 82, peso atómico 207.19 y valencias químicas 2 y 4. El plomo es un metal pesado de color azulado, que se oscurece para adquirir un color gris mate, es flexible, inelástico, se funde con facilidad y es relativamente resistente al ataque de los ácidos sulfúrico y clorhídrico, pero se disuelve con lentitud en ácido nítrico como se muestra en la Figura 1.3

El plomo es anfótero ya que forma sales de plomo de los ácidos, así como sales metálicas del ácido plúmbico, además forma óxidos y compuestos organometálicos.



**Figura 1.3: Plomo**

Industrialmente, el plomo se utiliza tanto en forma sólida como líquida siendo las aleaciones con Sn, Cu, As, Sb, Bi, Cd y Na las más utilizadas; el uso de estos productos generan polvo, humos o vapores y sus compuestos más importantes son los óxidos de plomo y el tetra-etilo de plomo.

El material particulado fino de plomo (10-100  $\mu\text{m}$ ) puede ser extremadamente peligroso por las siguientes razones:

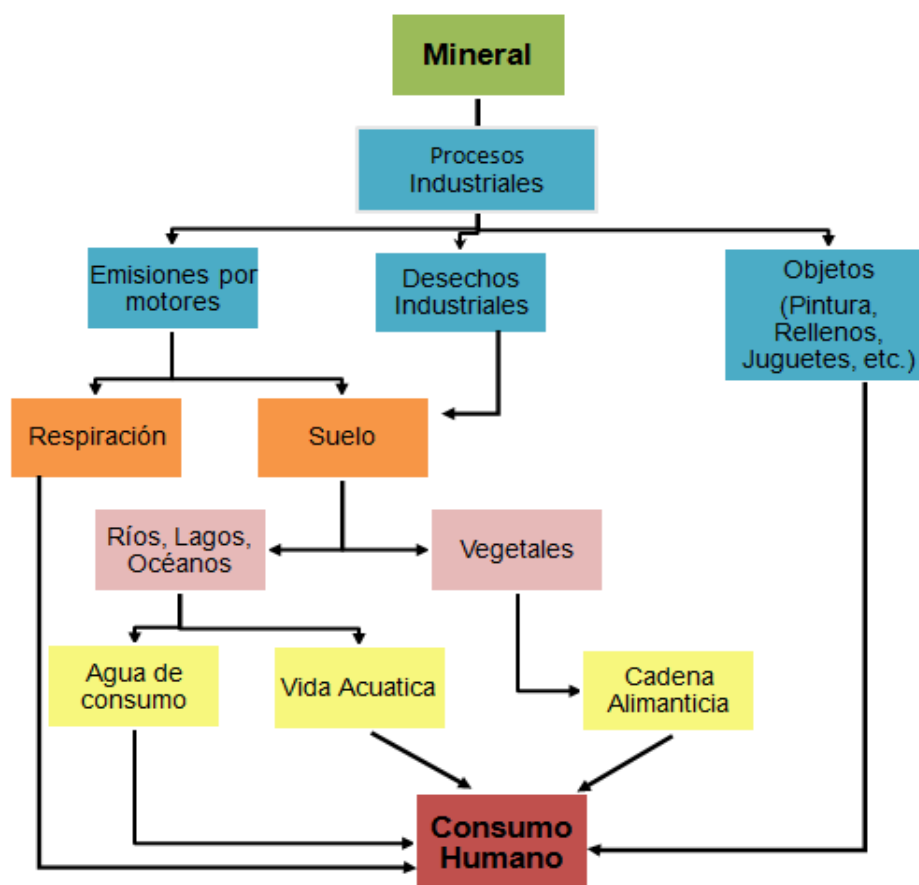
- Se adhiere más fuertemente a la piel.
- Es más soluble en el tracto gastrointestinal.
- Es fácilmente absorbible a través del sistema respiratorio.

#### **1.4.1 EFECTOS DEL PLOMO EN LA SALUD**

El plomo a través de los años ha sido usado en la fabricación de tuberías, elementos de construcción, pigmentos, soldadura suave, pinturas, gasolina, pesticida, cables y productos metálicos, convirtiéndose en la fuente de contaminación de alimentos, agua de consumo y aire, constituyendo el cuarto metal con mayor efecto perjudicial sobre la salud humana.

Los compuestos del plomo son tóxicos y han producido envenenamiento de trabajadores por su uso inadecuado y por una exposición excesiva a los mismos, en general, la absorción de plomo puede constituir un grave riesgo

para la salud dado que puede provocar un retraso del desarrollo mental e intelectual de los niños y causar hipertensión y enfermedades cardiovasculares en los adultos. En el 2006 la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC) clasificó al plomo inorgánico como probable carcinógeno para los humanos (Grupo 2A). En la Figura 1.4 se presenta las rutas de llega del Pb, al sistema digestivo o al respiratorio de los humanos.



**Figura 1.4** Rutas de contaminación humana por Pb

El plomo es un metal carente de valor biológico, es decir, no es requerido para el funcionamiento normal de los seres vivos; debido a su tamaño y carga, el plomo puede sustituir al calcio por tanto su área de acumulación son los tejidos óseos y las vías de contaminación humana que pueden ser por inhalación e ingestión de agua y alimentos, causando diferentes efectos como:

- Pérdida de los reflejos, anemia, pérdida de la fertilidad, problemas en el sistema nervioso, graves daños al cerebro (encefalopatía) y

envenenamiento por plomo cuando los niveles de plomo en la sangre alcanzan 40  $\mu\text{g}/\text{dl}$  o más.

- En el caso de mujeres embarazadas el plomo puede entrar en el feto a través de la placenta de la madre. Debido a esto puede causar serios daños al sistema nervioso y al cerebro de los niños por nacer.
- En adultos que trabajan en ambientes expuestos a la contaminación con plomo, el metal puede acumularse en los huesos, donde la permanencia media es superior a los 20 años como muestra la Figura 1.5. La osteoporosis, embarazo, o enfermedades crónicas pueden hacer que éste plomo se incorpore rápidamente a la sangre.



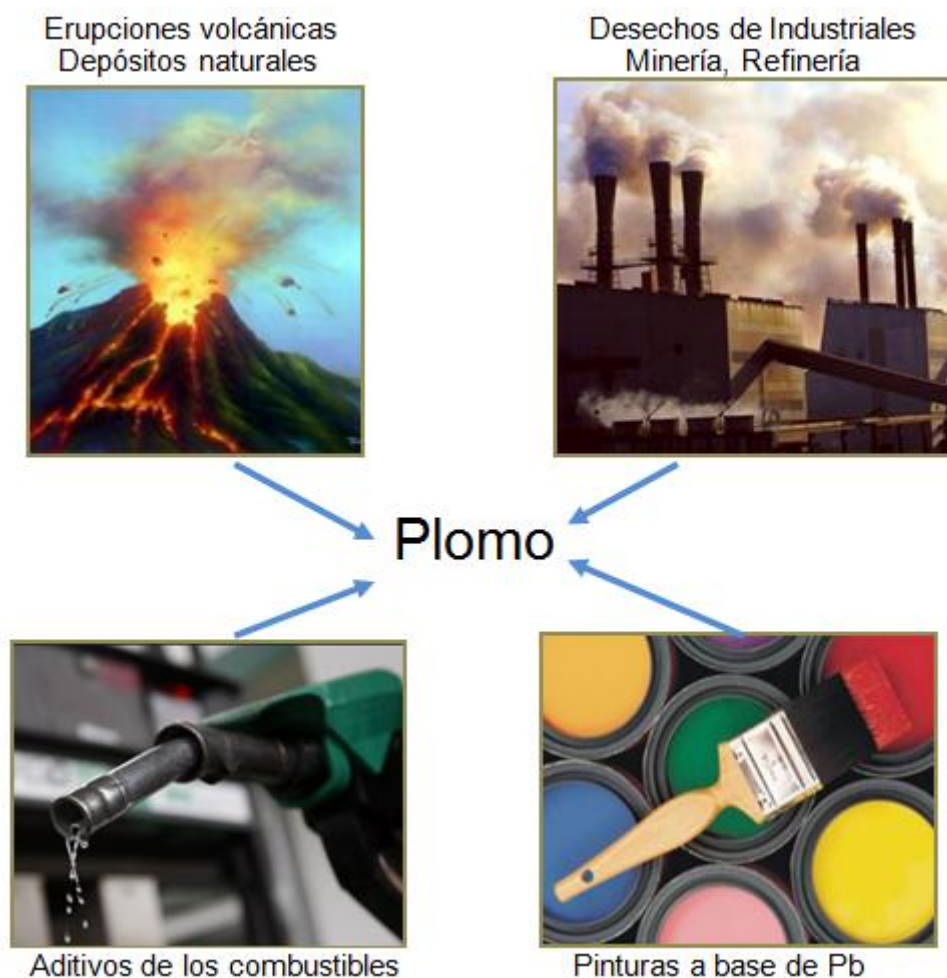
**Figura 1.5:** Acumulación de plomo en piezas dentales

Los problemas relacionados con la sobreexposición al plomo en adultos incluyen:

- ✓ Daño en los riñones.
- ✓ Daño en el tracto gastrointestinal.
- ✓ Daño en el sistema reproductor.
- ✓ Problemas en la síntesis de la hemoglobina
- ✓ Daño en los órganos productores de sangre.
- ✓ Daños neurológicos.
- ✓ Abortos.

### 1.4.2 EFECTOS DEL PLOMO EN EL AMBIENTE

El plomo se encuentra en pequeñas cantidades en el ambiente, pero las mayores concentraciones son el resultado de las actividades humanas como: combustión del petróleo, procesos industriales, combustión de residuos sólidos, entre otros como se muestra en la Figura 1.6.



**Figura 1.6:** Fuentes de plomo en el ambiente

Las actividades humanas generan que las partículas de plomo se depositen en el suelo, la superficie del agua y viajen a través del aire permaneciendo en la atmósfera.

Entre los principales deterioros al medio ambiente se tiene la pérdida de fertilidad del suelo limitando la síntesis clorofílica de las plantas y la

perturbación en el fitoplancton en el caso del recurso agua; aunque algunas plantas pueden absorber hasta 500 ppm de plomo.

Más del 90% de la contaminación ambiental producida es retenida en las partículas de suelo y cerca del 9% es interceptada en los sedimentos acuáticos. La contaminación de un suelo con Pb es preocupante ya que éste presenta un alto tiempo de residencia en el suelo, estableciéndose un equilibrio dinámico con la hidrosfera, atmósfera y biosfera y de esta forma alterando el ecosistema, incluyendo al ser humano. (Huang, 1999)

## **1.5 BIORREMEDIACIÓN**

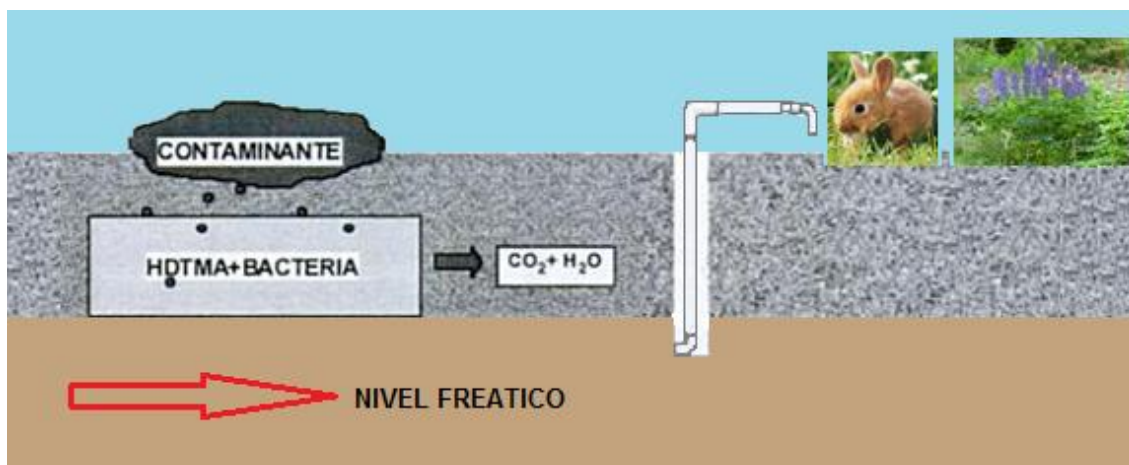
La EPA define biorremediación como la manipulación de sistemas biológicos para efectuar cambios en el ambiente. La biorremediación surge como una rama de la biotecnología que busca resolver los problemas de contaminación mediante el diseño de microorganismos capaces de degradar compuestos que provocan desequilibrios en el medio ambiente.

El proceso de biorremediación dependiendo del medio que se utilice para la descontaminación del suelo puede clasificarse en:

- Fitorremediación: Uso de plantas verdes para remover, contener o neutralizar compuestos orgánicos y metales pesados.
- Biorremediación animal: Uso de animales que tienen la capacidad de desarrollarse en medios altamente contaminados.
- Biorremediación microbiana: Uso de bacterias acumuladoras como hongos, algas, cianobacterias y actinomicetos como se muestra en la Figura 1.7 (Cruz & Guzmán, 2007).

Como se puede evidenciar en la figura 1.7





**Figura 1.7:** Ejemplo de técnicas de remediación que asocian adsorción y biodegradación de contaminantes orgánicos

Fuente: (Cruz & Guzmán, 2007)

Entre las ventajas que presenta la biorremediación sobre los métodos fisicoquímicos tradicionales para el tratamiento de sitios contaminados, se encuentran:

1. Disminución del costo de operación
2. Los contaminantes son destruidos o transformados y normalmente no se requiere de un tratamiento adicional.
3. La remediación se puede llevar a cabo en el mismo lugar (in situ) o ex situ en biorreactores (Castillo, 2005).

Aunque no todos los compuestos son susceptibles a la biodegradación, los procesos de biodegradación se usan con éxito para tratar suelos, lodos y sedimentos contaminados.

Los metales pesados acumulados en el suelo superficial se reducen lentamente mediante la lixiviación, el consumo por las plantas, la erosión y la deflación, (Puga, Sosa, Lebgue, Quintana, & Campos, 2006) es por esto que se ha utilizado ciertas especies de plantas para realizar fitorremediación.

La utilización de métodos biológicos para remediar un ambiente contaminado (biorremediación) ofrece una alta especificidad en la remoción del metal de interés con flexibilidad operacional, tanto en sistemas in situ como ex situ.

## 1.6 FITORREMEDIACIÓN

La fitorremediación es una tecnología alternativa y sustentable, es el uso de plantas asociados al tratamiento in situ de suelos y efluentes contaminados, es una tecnología que surge potencialmente para la limpieza eficaz y barata de una amplia gama de contaminantes.

Algunas plantas cultivadas y silvestres se usan como medio en el proceso de fitorremediación de suelos contaminados con metales pesados, la capacidad de absorción por parte de la planta varía según el tipo de contaminante, tipo de suelo y pH por lo que surge la posibilidad de adaptar la elección del cultivo al nivel y tipo de contaminación existente, así, se han encontrado especies con la capacidad de hiper-acumular diferentes contaminantes (Agudelo, Macias, & Suárez, 2009).

Algunas plantas destruyen los agentes contaminantes orgánicos degradándolos directamente, mientras que otras toman los contaminantes inorgánicos del suelo o del agua y los concentran en el tejido o la raíz, por tanto se puede usar diversas plantas para la contención, destrucción o extracción de los contaminantes. (Banks & Schwab, 1993)

Este grupo de fitotecnologías reúne un gran número de ventajas como: limpieza, economía, no utilizan reactivos químicos, no afectan negativamente a la estructura del suelo, sólo aplican prácticas agrícolas comunes y además el proceso se realiza 'in situ' evitando costos de transporte. (Cunnigham, Berti, & Huang, 1995)

Para realizar la fitorremediación se requiere establecer una cobertura vegetal abundante; sin embargo, la alta concentración del contaminante será el principal limitante para el crecimiento de las plantas, además de la tolerancia de estas al contaminante conocido como hiper-acumulación.



Las plantas hiper-acumuladoras son capaces de almacenar excesivas cantidades de contaminante en su follaje ( $> 1\%$  del peso seco de la planta), este mecanismo implica alta tolerancia específica a metales pesados, los

cuales están presentes en el suelo en concentraciones que normalmente podrían considerarse fitotóxicas. (Baker AJM, 1989)

Sin embargo, las plantas hiper-acumuladoras pueden ser endémicas de áreas contaminadas, presentando un lento crecimiento y poca producción de materia vegetal.

Especies herbáceas, arbustivas y árboles pueden utilizarse para la fitorremediación de suelos contaminados por metales pesados; además se han identificado 400 especies hiperacumuladoras de las familias Asteraceae, Brassicaceae, Caryophyllaceae, Cyperaceae, Cunouniaceae, Fabaceae, Flacourtiaceae, Lamiaceae, Poaceae, Violaceae y Europhobiaceae. Entre las plantas utilizadas para fitorremediación de plomo se encuentra el girasol (*Helianthus annuus*) y la mostaza de la India (*Brassica juncea*) (Volke, Velasco, & Pérez, 2005), además de algunas especies como se puede evidenciar en la Tabla 1.1

**Tabla 1.1:** Especies utilizadas para la Fitorremediación.

Nombre científico	Nombre Común	Figura
<i>Anthoxanthum odoratum</i>	Grama de olor	
<i>Agrostis canina</i>	Heno gris	





**Tabla 1.1:** Especies utilizadas para la Fitorremediación.

Continuación...

Nombre científico	Nombre Común	Figura
<i>Agrostis Capillaris</i>	Pasto quila	
<i>D. flexuosa</i>	Algarroba	
<i>F. ovina</i>	Pasto	
<i>Holcus lanatus</i>	Heno blanco	

**Tabla 1.1:** Especies utilizadas para la Fitorremediación.





Continuación...

Nombre científico	Nombre Común	Figura
<i>Silene vulgaris</i>	Colleja	
<i>Medicago sativa</i>	Alfalfa	
<i>Zea mays</i>	Maíz	
<i>Nicotina tabacum</i>	Tabaco	





**Tabla 1.1:** Especies utilizadas para la Fitorremediación.

Continuación...

Nombre científico	Nombre Común	Figura
<i>Sorghum bicolor L</i>	Sorgo	
<i>Amaranthus hybridus</i>	Amaranto	
<b>Especies de árboles</b>		
<i>Salix alba</i>	Sauce	
<i>Populus alba</i>	Álamo	

**Tabla 1.1:** Especies utilizadas para la Fitorremediación.

Continuación...

Nombre científico	Nombre Común	Figura
<i>Pinus sylvestris</i> L.	Pino	
<i>Betula pendula</i>	Abedul	

Los árboles pueden ser utilizados para la recuperación de los suelos contaminados, pero las consecuencias ecológicas de su uso difieren con relación a las plantas herbáceas debido a la forma de crecimiento, composición química y longevidad (Wenzel, 1999).

### 1.6.1 MECANISMOS DE LA FITORREMEDIACIÓN.

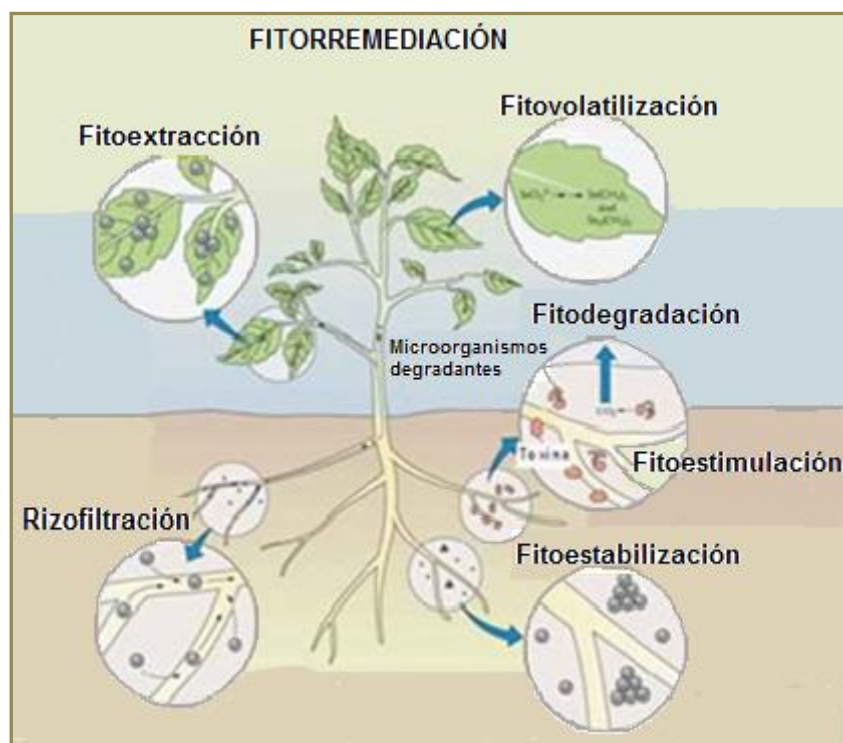
La remoción de contaminantes por fitorremediación se realiza empleando alguno de los siguientes mecanismos:

- **Fitoextracción:** Consiste en la absorción de contaminantes por las raíces, tallos o follaje usando plantas acumuladoras de elementos tóxicos o compuestos orgánicos para retirarlos del suelo mediante su absorción y concentración en las partes cosechables sin presentar síntomas de toxicidad. La selección de las plantas debe realizarse considerando el tamaño de las raíces , la tasa de crecimiento , acumulación de contaminantes, biomasa y potencial de evapotranspiración. Los pastos, musgos y helechos son el género que presentan mayor adaptabilidad a las diferentes condiciones ambientales y pueden captar gran cantidad de contaminante (Volke, Velasco, & Pérez, 2005).
- **Fitoestabilización:** Uso de plantas para reducir la biodisponibilidad y movilidad de los contaminantes en el entorno, evitando el transporte a capas subterráneas o a la atmósfera, mejorando las propiedades físicas y químicas del medio (Diez J. , 2003).
- **Fitoimmobilización:** Uso de las raíces de las plantas para la fijación o inmovilización de los contaminantes en el suelo.
- **Fitovolatilización:** Uso de plantas para eliminar los contaminantes del lugar mediante su volatilización, y para eliminar contaminantes del aire. Se produce a medida que las plantas en crecimiento absorben agua junto con los contaminantes orgánicos solubles. Algunos de los contaminantes pueden llegar hasta las hojas y evaporarse o volatilizarse a la atmósfera.
- **Fitodegradación:** Uso de plantas y microorganismos asociados para degradar contaminantes orgánicos en moléculas más simples. En determinadas ocasiones, los productos de la degradación le sirven a la planta para acelerar su crecimiento, en otros casos los contaminantes son biotransformados.



- **Rizofiltración:** uso de raíces para absorber y adsorber contaminantes del agua y de otros efluentes acuosos. Se prefieren raíces de plantas terrestres con alta tasa de crecimiento y área superficial para absorber, concentrar y precipitar contaminantes.
- **Fitoestimulación:** o rizodegradación las plantas generan los exudados radiculares que estimulan el crecimiento de los microorganismos nativos capaces de degradar compuestos orgánicos xenobióticos.

En la Figura 1.8 se puede apreciar los diferentes mecanismos de la fitorremediación.



**Figura 1.8:** Mecanismos de fitorremediación

Fuente: (Barid, 2004)

### 1.6.2 FASES DE LA FITORREMEDIACIÓN

Una planta acumuladora puede realizar cualquiera de los mecanismos de fitorremediación siguiendo tres fases:

- Absorción
- Excreción
- Desintoxicación de contaminantes.

#### **a) Absorción**

La absorción de contaminantes se realiza a través de las raíces y las hojas mediante los estomas y la cutícula de la epidermis. (Watt & Evans, 1999) Esta absorción ocurre en la rizodermis de las raíces jóvenes, que absorben los compuestos por ósmosis dependiendo de factores externos como la temperatura y el pH del suelo.

Otros factores importantes que inciden en la penetración del contaminante son su peso molecular e hidrofobicidad que determinan que estas moléculas atraviesen las membranas celulares de la planta. Después de cruzar la membrana, los contaminantes son distribuidos a través de toda la planta. (Harvery, y otros, 2002)

#### **b) Excreción**

Los contaminantes que se absorben por las raíces, se excretan vía hojas (fitovolatilización). Cuando las concentraciones de los contaminantes son elevadas, solo pequeñas fracciones (menos del 5 %) se excretan sin cambios en su estructura química.

#### **c) Desintoxicación de contaminantes.**

La desintoxicación de los compuestos orgánicos se lleva a cabo por la vía de la mineralización hasta dióxido de carbono en el caso de contaminantes químicos orgánicos que se degradan; para altas concentraciones se utiliza la incineración controlada y se desechan las cenizas en los lugares disponibles para este fin.

Las ventajas de la fitorremediación radican en que las plantas absorben los metales pesados y gran variedad de contaminación en sus raíces, evitando la contaminación de aguas subterráneas, mientras que la desventaja radica en que el metal pesado utiliza el ciclo biológico de la planta, por tanto la descontaminación toma tiempo (Agudela., et al 2005)

Las plantas utilizadas en el proceso de fitorremediación pueden tener varias opciones para su disposición final como la incineración o el confinamiento de las mismas.

## **1.7 NORNATIVA AMBIENTAL**

Desde los años 70 se han implementado numerosas medidas legales para eliminar el plomo de las pinturas, gasolinas, latas de alimentos y tuberías. La Organización Mundial de la Salud en 1995 estableció como límite legal 50 ppb de plomo en agua, planteando decrecer este límite hasta 10 ppb en el 2010.

Dentro de la normativa establecida para plomo se encuentra:

### **a) La Administración de Seguridad y Salud Ocupacional (OSHA)**

- Limita la exposición de elementos aerotransportados en el sitio de trabajo a 50  $\mu\text{g}/\text{m}^3$  (microgramos de plomo por metro cúbico de aire) promediados sobre un día de trabajo de ocho horas.
- Limita las cantidades de plomo cargado en el flujo sanguíneo de un trabajador a 40  $\mu\text{g}/\text{dl}$ .

### **b) La agencia de protección ambiental (EPA)**

- Requiere que los niveles en el ambiente permanezcan a/o por debajo de 15  $\mu\text{g}/\text{m}^3$  promediado sobre un período muestreado de tres meses.
- Prohibió la venta de gasolina con plomo en EU desde 31 de diciembre de 1995.
- Recomendó una concentración máxima de plomo en el agua de 15  $\mu\text{g}/\text{L}$ .

**c) Texto Unificado de Legislación Secundaria Medio Ambiente (TULSMA) Libro VI “De la Calidad Ambiental”**

- Anexo 1: Norma de calidad ambiental y de descargas de efluentes: Recurso agua, Límites máximos permisibles para aguas de consumo humano y uso doméstico, que únicamente requieren tratamiento convencional.
- Anexo 2. Norma de Calidad Ambiental del recurso suelo y criterios de remediación para suelos contaminados.
- Anexo 3: Límites máximos permisibles de emisiones gaseosas de incineradores de desechos peligrosos.

Ordenanza Metropolitana Nº 146 del 20 de mayo de 2005 para la codificación del título V “Del Medio Ambiente”, libro segundo, del código municipal para el Distrito Metropolitano de Quito.

Ley de regulación de la producción y comercialización de combustibles del Ecuador, expedida en octubre de 1995 y que dispone suprimir el aditivo de plomo en todas las gasolinas, a partir de junio de 1998.

## **1.8 TÉCNICAS DE CUANTIFICACIÓN DE METALES PESADOS**

La técnica de espectroscopía de absorción atómica es un método para la detección y la determinación de elementos químicos, especialmente de elementos metálicos.

Los compuestos, previo a su análisis, se deben romper en los átomos que los constituyen, lo cual se realiza por pulverización en una llama a alta temperatura; un rayo luminoso de una cierta longitud de onda, producido por un tipo especial de lámpara, se dirige a lo largo del eje longitudinal de una llama plana y hacia un espectrofotómetro y simultáneamente, la solución de la muestra es aspirada hacia el interior de la llama, antes de entrar en ésta, la solución es dispersada formando una niebla de gotas muy finas, que se

evaporan en la llama dando inicialmente la sal seca y luego el vapor de la sal, el cual se disocia, por lo menos en parte, en átomos del elemento que se desea determinar. (Walto & Reyes, 2005)

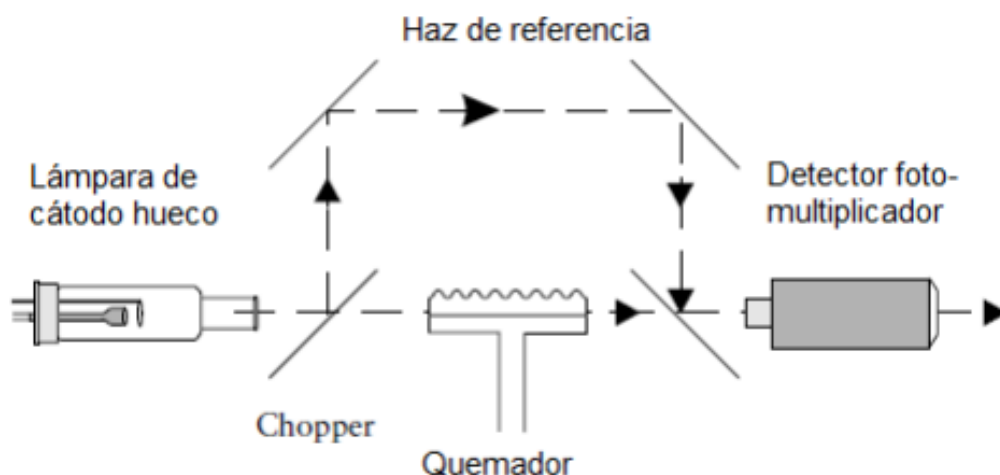
### **1.8.1 ESPECTROMETRÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA POR LLAMA.**

La espectroscopia de absorción atómica de llama es la forma más utilizada de la espectroscopia atómica, por medio de esta, muchos iones metálicos pueden determinarse fácilmente en niveles de mg/Kg (ppm).

En la práctica, la técnica se basa en una fuente de átomos elementales o iones que están electrónicamente excitados por la luz monocromática, la absorción que se produce se mide por el instrumento.

El suministro de una fuente de átomos en forma elemental (o iónico elemental), está determinado por un nebulizador, junto con una llama de aire/acetileno, la primera etapa es la formación de un aerosol de micro-gotas de la solución del analito por medio del nebulizador, en este proceso, una bomba peristáltica pasa por un suministro continuo de la solución del analito en la trayectoria de un chorro de aire comprimido para producir una fina niebla de gotas diminutas y el aerosol se dirige en una larga y delgada llama de aire / acetileno para dar lugar a la atomización del analito.

Los gases de combustión se mezclan antes de la combustión, la llama está dirigida por una rendija de chorro gas de aproximadamente 10 cm de longitud y 2-3 mm de ancho, el acetileno se quema para proporcionar una temperatura de alrededor de 2000 °C a 2200 °C, si se requieren temperaturas más altas, las mezclas de gases de combustible acetileno /óxido nitroso puede ser utilizadas. El acetileno y el aire de la espectroscopia atómica de llama se mezclan antes de pasar a través del flujo de gas y es en este punto donde la mezcla de estos se enciende y para los gases de escape se coloca una campana de extracción directamente encima de la chimenea de salida del espectrofotómetro como muestra la Figura 1.9. (Oxford University, 2004)



**Figura 1.9:** Esquema de la llama del espectrómetro de absorción atómica

Las gotas finas del disolvente en la sustancia analizada (que es casi siempre agua) se evaporan muy rápidamente a estas temperaturas. La sal del metal, a su vez se evapora y este se reduce en las altas temperaturas dentro de la llama para completar el proceso de atomización, la llama tiene una forma que permite que la radiación incidente pase a través de un suministro continuo de la muestra atomizada. Un detector (que es normalmente un tubo fotomultiplicador) puede controlar la intensidad de la radiación y por lo tanto la absorción. (Oxford University, 2004)

## **CAPÍTULO II: MATERIALES Y MÉTODOS**

### **2.1 SELECCIÓN DE ESPECIES UTILIZADAS PARA LA REMOCIÓN DE PLOMO POR FITORREMEDIACIÓN EN SUELOS CONTAMINADOS**

La selección de tres especies a estudiar, se realizará considerando una muestra control y dos adicionales utilizadas en cultivos generales en la sierra ecuatoriana.

La muestra control tendrá la característica especial de absorción conocida de plomo en su estructura vegetal y las dos muestras adicionales serán seleccionadas considerando los siguientes aspectos:

- Usadas para consumo humano y animal
- Resistentes a las condiciones ambientales
- Resistentes a plagas

### **2.2 CONSTRUCCIÓN DE SEMILLEROS**

Los semilleros utilizados en la investigación incluirá tierra exenta de plomo y nutrientes básicos para el crecimiento de las plantas. Cada semillero contendrá un solo grupo de plantas a estudiar.

Los semilleros serán humectados con agua natural cada vez que sea necesario para el buen desarrollo de las plantas; luego de la germinación de las semillas, se dejará transcurrir aproximadamente cuatro semanas hasta que las plántulas alcancen la madurez necesaria para el trasplante.

La adición de agua suministrada a los diferentes semilleros se realizará pasando un día y utilizando riego tipo lluvia que asegure la humectación de todo el suelo.

## **2.3 EXPOSICIÓN DE PLANTAS SELECCIONADAS A SUELOS CON DIFERENTES CONCENTRACIONES DE PLOMO**

Cuando las plantas alcancen el tamaño promedio de 20 cm, deberán ser expuestas a los suelos contaminados con plomo.

Los suelos contaminados tendrán una concentración de 2,5; 5 y 10% (p/p) de plomo. El suelo base usado para la preparación del sustrato deberá estar exento de plomo y el sustrato deberá mezclarse hasta obtener un suelo homogéneo.

Las plantas seleccionadas para el estudio, estarán expuestas 20, 30, 45, 60 y 90 días respectivamente.

## **2.4 CUANTIFICACIÓN DE PLOMO UTILIZANDO LA TÉCNICA DE ABSORCIÓN ATÓMICA**

La cantidad de plomo será cuantificada utilizando la técnica de absorción atómica en las muestras de:

- Suelo inicial exento de plomo utilizado en los semilleros.
- Suelos contaminados a una concentración de 2,5; 5 y 10% (p/p) de plomo.
- Plantas a ser trasplantadas sin exposición de plomo.
- Plantas expuestas a las diferentes concentraciones de plomo y expuestas a 20, 30, 45, 60 y 90 días.
- Suelos contaminados luego de la fitorremediación

Las plantas seleccionadas para el respectivo análisis corresponderán a un muestreo aleatorio; de dichas plantas se procederá a retinar la mayor cantidad



posible de sustrato adherido a las raíces y se colocará en bolsas zip claramente identificadas con el código específico de la muestra, tiempo de exposición y fecha de monitoreo. Estas muestras seleccionadas serán llevadas el mismo día a un laboratorio certificado para su respectiva cuantificación, en el caso que no se pueda llevar el mismo día se congelarán las muestras hasta su respectivo análisis.

## CAPÍTULO III: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 3.1 SELECCIÓN DE ESPECIES UTILIZADAS PARA LA REMOCIÓN DE PLOMO POR FITORREMEDIACIÓN EN SUELOS CONTAMINADOS

Según el estudio de Rodríguez, García y Rodríguez, 2006 se presenta diferentes tipos de plantas utilizadas en la fitorremediación de suelos contaminados con plomo tales como: maíz (*Zea mays*), mostaza parda (*Brassica juncea*), Sesbania (*Sesbania drummardii*), nabo (*Brassica rapa*) y amaranto (*Amaranthus hybridus*), cada una presentan condiciones y tiempos propios de cultivo así:

- Maíz: el cultivo tiene un tiempo de duración de 6 a 8 meses hasta llegar a su madurez fisiológica correspondiendo a un cultivo de ciclo largo. El cultivo requiere radiación solar, temperaturas altas y presenta susceptibilidad a la falta de agua (López & Espinosa, 2006; Guerrero A. , 1999).
- Mostaza parda: el cultivo requiere de suelos húmedos, con abundante sol y no necesita de nitrógeno por lo que no es necesario abonar (López & Torija, 2006).
- Sesbania: corresponde a un arbusto que puede desarrollarse en ambientes secos y húmedos, teniendo un tiempo de duración prolongado (Guerrero & Herrera, 1994).
- Nabo: el cultivo requiere temperaturas moderadas y abundante humedad. Las variedades tiernas son utilizadas para consumo humano y las maduras para forraje (Mateo, 2008; Barrios, Alatorre, Calyecac, & Bautista, 2004).
- Amaranto: es un cultivo de ciclo corto 150 a 180 días y presenta resistencia a las sequías (Salas & Boradonenko, 2009).

La mayoría de especies antes mencionadas presentan susceptibilidad en ausencia de agua, por tanto el amaranto fue seleccionado como muestra control dentro del estudio.

Las dos muestras nativas seleccionadas para el estudio correspondieron a plantas que se usan para el consumo animal y otra para consumo humano y que presente resistencia a plagas y condiciones ambientales, seleccionando la alfalfa (*Medicago sativa*) como planta para consumo animal y acelga (*Beta vulgaris* var. *cicla*) como hortaliza para consumo humano.

Las características de cultivo de las plantas seleccionadas son las siguientes:

- Alfalfa: Se caracteriza por fijar nitrógeno y fósforo en el suelo, es tolerante a bajas temperaturas de 10 y 15 °C bajo cero y temperaturas medias anuales de 15°C, es una planta tolerante a la sequía, pero muy susceptible a excesos de agua y a suelos ácidos por debajo de 6,4 (Guerrero A. , 1999).
- Acelga: Se adapta a suelos bien drenados, ricos en materia orgánica, buen contenido de humedad y un pH entre 5,8 y 6,8 aunque es tolerante a suelos salinos. La temperatura óptima de desarrollo fluctúa entre los 13 a 18 °C (Martínez, Lee, Chaparro, & Páramo, 2003).

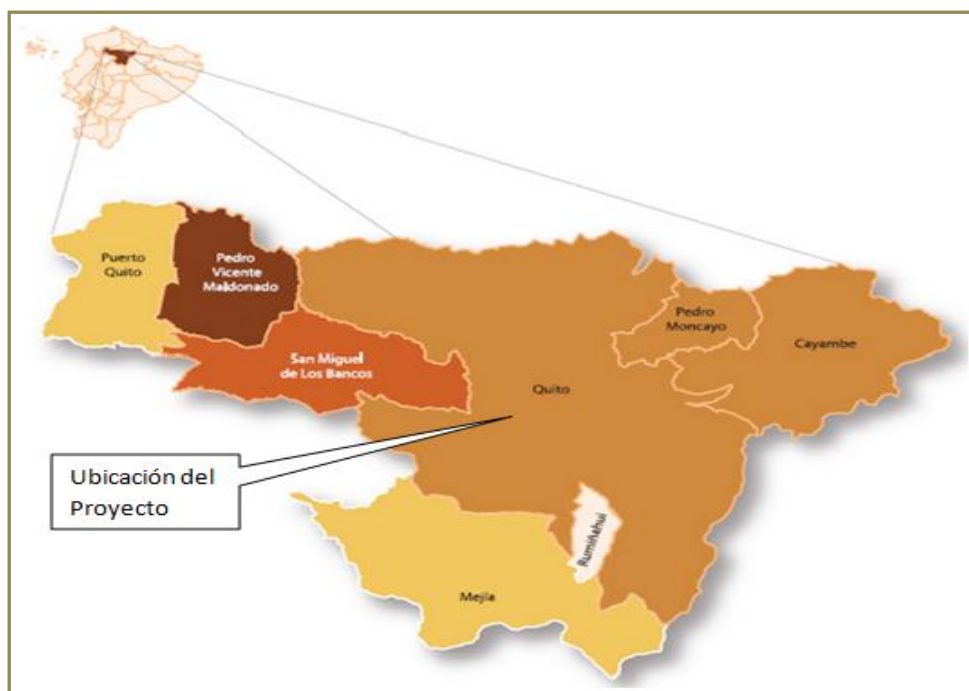
### 3.2 CONSTRUCCIÓN DE SEMILLEROS

Los semilleros fueron contruidos utilizando bolsas plásticas de color negro (Figura 3.1), necesarias para retener la humedad del suelo y provocar la germinación de la semilla y el crecimiento de la planta y provistas de orificios necesarios para el drenaje del agua en exceso.



**Figura 3.1:** Fundas utilizadas para semilleros

Los semilleros fueron colocados en un invernadero ubicado en Ponciano alto (Figura 3.2), en la ciudad de Quito, Provincia de Pichincha. Latitud  $0^{\circ} 6' 10''$  Sur y Longitud  $78^{\circ} 29' 2''$  Oeste.

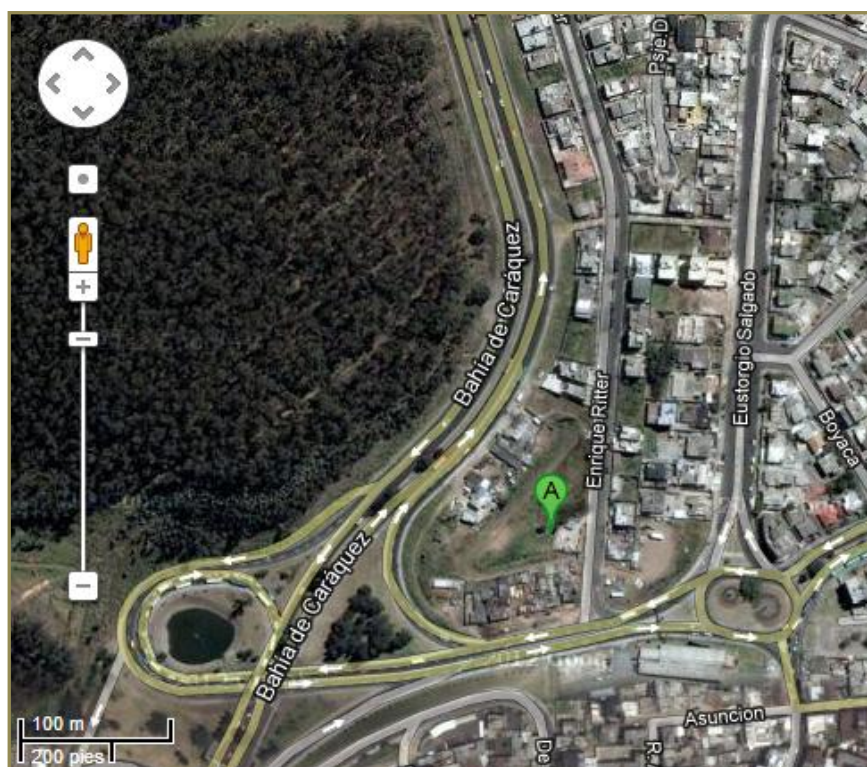


**Figura 3.2:** Ubicación geográfica del proyecto

El suelo utilizado como sustrato inicial correspondió a la mezcla de 12 fundas de 4 Kg de tierra negra, marca Cribos IND, libre de maleza y alta fertilidad recomendada para la siembra en semilleros o macetas y tierra recolectada en el sector de Miraflores (Figura 3.3), de la ciudad de Quito, Provincia de Pichincha. Latitud  $0^{\circ} 12' 21''$  Sur y Longitud  $78^{\circ} 30' 38''$  Oeste (Figura 3.4).



**Figura 3.3:** Tierra utilizada para semilleros



**Figura 3.4:** Ubicación geográfica Miraflores

Fuente: google maps

Luego del análisis respectivo se definieron tres especies vegetales, comunes en el Ecuador que componen la flora nativa: alfalfa (*Medicago sativa*), acelga (*Beta vulgaris* var. *Cicla*) y amaranto (*Amaranthus hybridus*).

## AMARANTO

El amaranto se cultiva en América desde hace unos 5000 años. El amaranto puede ser cultivado de formada directa o utilizando el método de trasplante, pertenece a la clase de las dicotiledóneas y familia de las amarantáceas, comprende plantas anuales o perennes de origen tropical, crece en tierras poco fértiles y con una mínima cantidad de agua. Es un cultivo altamente eficiente que en condiciones adversas como la sequía y altas temperaturas puede desarrollarse efectivamente.

Además de presentar un rápido crecimiento y habilidad de producir gran cantidad de biomasa. De acuerdo a su variedad, puede alcanzar alturas de 0,5 a 3 metros; posee hojas anchas y abundantes de color brillante, espigas y flores púrpuras, naranjas, rojas y doradas.

El amaranto variedad INIAP Alegría (Figura 3.5), fue utilizado para este proyecto y corresponde a una planta de raíz pivotante, con numerosas raíces secundarias, terciarias y raíces laterales. El tallo es redondo, cilíndrico, de color verde a la floración y verde claro con rosado a la cosecha, y puede llegar hasta 1,8 m de largo. Las hojas son de forma romboidal, lisas, llegan a medir hasta 20 cm de largo por 8 cm de ancho. (Peralta, 2009)



**Figura 3.5:** Amaranto alegría

## ALFALFA

Pertenece a la familia de las leguminosas, es una planta perenne, utilizada principalmente para forraje (Figura 3.6).



Tiene un gran sistema radicular, con una raíz principal robusta y muchas raíces secundarias. La raíz principal alcanza profundidades de 2 a 5 m. las hojas normales son trifoliadas, las flores principalmente de color violáceo o azul pueden medir de 8 a 10 mm de longitud.



**Figura 3.6:** Planta de alfalfa

#### **ACELGA:**

La acelga es una hortaliza, pertenece a la familia de las *Quenopodiáceas*. Es una planta herbácea de periodos largos. Se cultiva en zonas de altitud comprendida entre los 1 200 y 2 700 msnm (Figura 3.7).

Generalmente no soporta las heladas, se adapta a suelos francos, profundos, bien drenados, ricos en materia orgánica, con buen contenido de humedad y un pH entre 5.8 y 6.8, la temperatura óptima para su desarrollo está comprendida 13°C hasta los 18°C.

Su Sistema radicular es bastante profundo y fibroso.



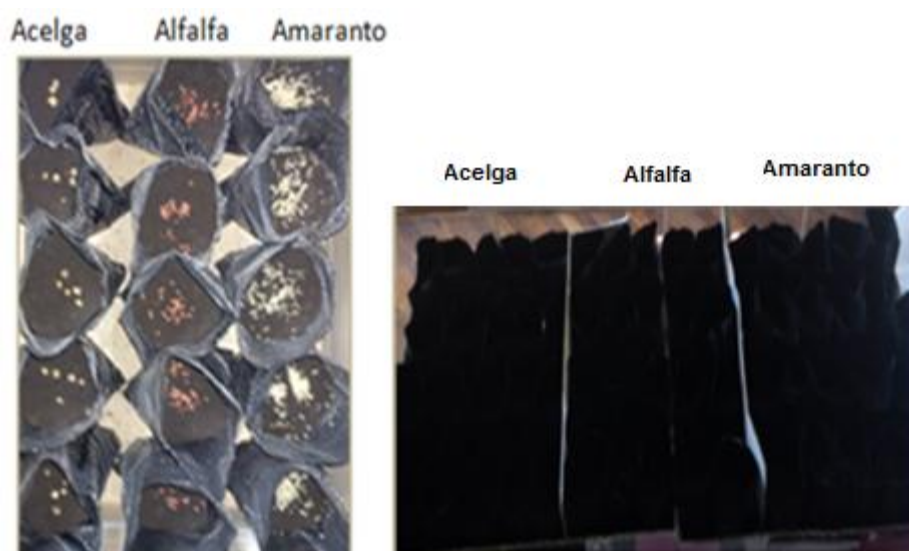
**Figura 3.7:** Planta de acelga

Cada semillero fue construido utilizando semillas certificadas por el INIAP, como se muestra en la Figura 3.8 y Figura 3.9 y en número de 20 bolsas para cada especie, las cuales se mantuvieron dentro del semillero por un lapso de tres meses.



**Figura 3.8:** Semillas certificadas





**Figura 3.9:** Semilleros

Los semilleros generados contenían un total de 20 semillas de cada una de las diferentes especies las cuales se controlaron para establecer los porcentajes de germinación de plantas como muestra la Figura 3.10, la cual se manifestó de la siguiente manera:



**Figura 3.10:** Germinación de plantas

- **ALFALFA:** Las primeras germinaciones se evidenció a los dos días y la germinación completa a los 5 días. Todas las plantas se desarrollaron normalmente durante la permanencia en el semillero, presentado un porcentaje de germinación del 100% como se muestra en la Figura 3.11



**Figura 3.11** Germinación de las plantas de alfalfa

- ACELGA: las primeras germinaciones se evidenció a los siete días y la germinación total se dio a los diez días, con un porcentaje de germinación del 80% como se muestra en la Figura 3.12



**Figura 3.12** Germinación de las plantas de acelga

- AMARANTO: las primeras germinaciones se presentaron a los cinco días y la germinación de todas las especies a los siete días (Figura 3.13), con un porcentaje de germinación del 95% y un porcentaje de mortalidad del 11%.



**Figura 3.13** Germinación de las plantas de amaranto

### **3.3 EXPOSICIÓN DE PLANTAS SELECCIONADAS A SUELOS CON DIFERENTES CONCENTRACIONES DE PLOMO**

Los semilleros utilizados para la exposición de las plantas a suelos contaminados con plomo en el presente estudio correspondieron a maceteros de plástico de 1 m de largo, con drenajes en la parte inferior que facilitan la evacuación del agua en exceso para evitar que las plantas se pudran, como se muestra en la Figura 3.14 y acondicionadas con recolectores de agua para almacenar los excesos de agua generados.



**Figura 3.14:** Recipientes plásticos utilizados para construir semilleros

El sustrato contaminado con plomo en concentraciones de 2,5; 5 y 10% (p/p), fue preparado utilizando plomo obtenido de la planta de reciclaje de baterías



automotrices de la empresa FABRIBAT (Baterías Ecuador), cuyas cenizas de plomo son utilizadas para la elaboración de baterías automotrices como se muestra en la Figura 3.15.



**Figura 3.15:** Ceniza de plomo

El plomo y la tierra exenta de plomo fueron mezcladas hasta obtener un sustrato completamente homogéneo y colocados en los maceteros de plástico como se muestra en la Figura 3.16; el sustrato fue preparado en los laboratorios de la Universidad Politécnica Salesiana y trasladado posteriormente al invernadero donde se mantuvieron durante toda la fase experimental.



**Figura 3.16:** Homogenización de suelo contaminado con plomo

El sustrato preparado para cada una de las experimentaciones correspondió a una cantidad total de 6000 g, cada solución correspondió a una mezcla de tierra exenta de plomo y plomo como se muestra en la Tabla 3.1.

**Tabla 3.1** Medidas de sustrato utilizadas

Ítem	Concentración p/p	m soluto (g) Pb	m solvente (g) Tierra	m solución (g)
M1 Ac	2,5	150	5850	6000
M2 Ac	5	300	5700	6000
M3 Ac	10	600	5400	6000
M1 Al	2,5	150	5850	6000
M2 Al	5	300	5700	6000
M3 Al	10	600	5400	6000
M1 Am	2,5	150	5850	6000
M2 Am	5	300	5700	6000
M3 Am	10	600	5400	6000

De las 9 macetas preparadas Figura 3.17, se tomaran aproximadamente 100 g para el muestreo inicial de plomo contenido en las mismas; este contenido inicial de plomo corresponderá a la concentración de contaminante a fitorremediar.



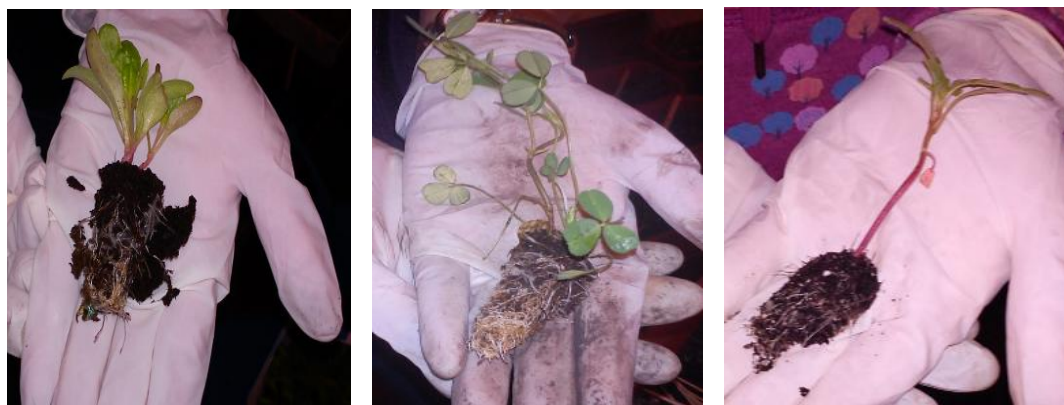
**Figura 3.17:** Suelos preparados

Una vez que las plantas de los semilleros iniciales alcanzaron una altura considerable para el trasplante y luego de haber transcurrido 4 semanas como muestra la Figura 3.18, se expusieron a las mismas a los diferentes suelos contaminados con plomo.



**Figura 3.18:** Plantas óptimas para el trasplante

En cada maceta de las diferentes concentraciones, se colocaron seis plantas de cada una de las especies, para controlar la absorción de contaminante en las plantas se envió a Pilvixa (empresa especializada en la germinación de plantas) a germinar las diferentes plantas en estudio las cuales presentaron mayor crecimiento debido a los diferentes nutrientes de nitrógeno adicionados (Figura 3.19)



**Figura 3.19:** Plantas germinadas en Pilvixa

A cada uno de los tratamientos de fitorremediación se agregó agua pasando un día, asegurándose de la homogenización de la humedad en todo el sustrato.

El riego utilizado fue de tipo lluvia como se muestra en la Figura 3.20. Para evaluar si la cantidad y frecuencia de agua suministrada era la adecuada se tomo como criterio de evaluación la observación del vigor de las plantas al mediodía, ya que en este período la evaporación es máxima. En el caso que las plantas presentasen pérdida de vigor (evidenciado por decaimiento) se realizaba un riego en la noche, de las especies que presentaban este síntoma, de igual manera si en alguna de las experimentaciones se presentaba saturación de agua, se aumentaba el período de riego a dos días.



**Figura 3.20:** Riego suministrado a las plantas

### **3.4 CUANTIFICACIÓN DE PLOMO UTILIZANDO LA TÉCNICA DE ABSORCIÓN ATÓMICA**

El primer monitoreo se realizó a las tierras que se utilizaron para la preparación del sustrato y del semillero para descartar la presencia de plomo y que este interfiera en los resultados finales. Como se puede evidenciar en el Anexo 3

El segundo monitoreo se realizó, una vez preparado el sustrato, se extrajo una muestra de aproximadamente 100 g de cada una de las macetas.

En los muestreos realizados a las especies se extrajeron dos plantas de cada maceta para la determinación del plomo. El procedimiento que se utilizó para el respectivo muestreo fue el siguiente:

1. Se tomó 2 plantas de cada maceta, una del extremo y otra del centro de la misma como se muestra en la Figura 3.21.
2. Se retiró manualmente la mayor cantidad posible de raíces con la menor cantidad de sustrato adherido, y se colocó en una bolsa Zip claramente identificada (código, tiempo de exposición y fecha del monitoreo).
3. Una vez obtenidas las muestras fueron llevadas al laboratorio para su respectiva cuantificación.



**Figura 3.21:** Planta de alfalfa enviada para análisis

#### **3.4.1 CUANTIFICACIÓN DE PLOMO DE LAS DIFERENTES ESPECIES UTILIZANDO LA TÉCNICA DE ESPECTROFOTOMETRÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA**

La cuantificación de plomo en las diferentes muestras se realizó en Corplab, un laboratorio acreditado por el OAE para la determinación plomo, utilizando la técnica de absorción atómica. Como se puede evidenciar en el Anexo 1.



En la tabla 3.2 se puede evidenciar el método utilizado.

**Tabla 3.2** método analítico empleado por el laboratorio

Parámetro	Método analítico	Límite de detección mg/kg
Plomo	EPA 3010A, Rev. 01, 1992; Standard Methods Ed-21- 2005, 3500 Pb	5,0 a 125 mg/Kg

El análisis de las muestras en el laboratorio Corplab siguió un procedimiento determinado como se puede observar en la Figura 3.22.



**Figura 3.22** Diagrama de proceso para la cuantificación de plomo por absorción atómica

Al momento de ingresar la muestra al laboratorio se llena una cadena de custodia, una vez ingresada la muestra es identificada con un código y llevada a refrigeración hasta su análisis. Como se puede evidenciar en el Anexo 2

Antes del análisis se deja aclimatar las muestras 30 minutos, y se procede a lavar las plantas para retirar el sustrato existente en las raíces de las plantas,

luego de lo cual se procede a secar las plantas como se muestra en la Figura 3.23.



**Figura 3.23:** Lavado y secado de las plantas

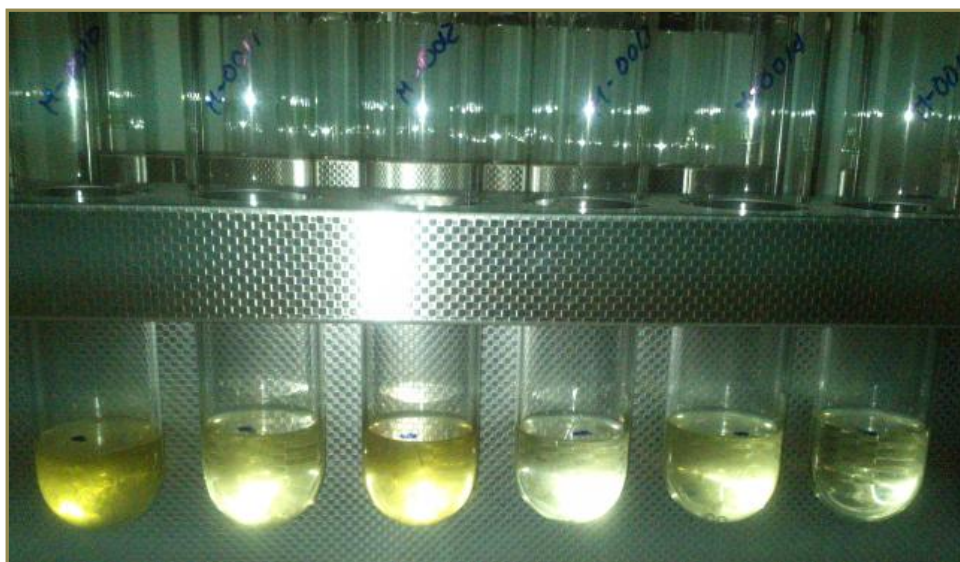
Una vez terminado este proceso se procede al pesaje de las muestras y su respectivo registro, para ser llevados al digestor marca Buchi Scrubber B414.

Previo al ingreso de la muestra al digestor se procede a realizar cortes a las plantas para su mejor digestión y se agrega ácido nítrico hasta aforar a 50 ml en relación 1 a 1; además se agregan núcleos de ebullición para evitar que salpique la solución como se muestra en la Figura 3.24.



**Figura 3.24:** Proceso de digestión

Se deja en el digestor aproximadamente 35 minutos a una temperatura entre 300 y 400 °C hasta digerir la muestra (Figura 3.25), una vez terminado este proceso se saca la muestra, se filtra, se afora la muestra a 50 ml con ácido nítrico al 3%. Previo a trasvasar las muestras a frascos para la lectura en el equipo de Absorción Atómica, se homogenizan las muestras.



**Figura 3.25:** Muestra digestada

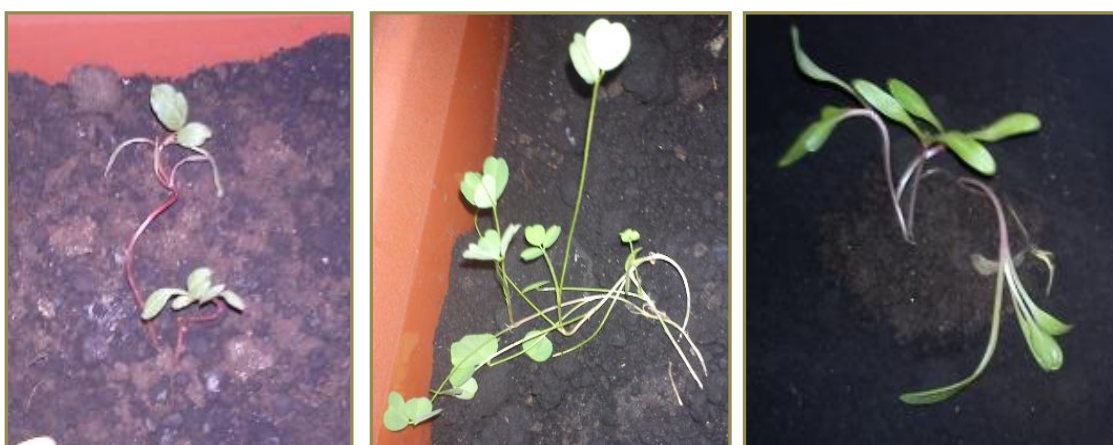
En el equipo de absorción atómica (Figura 3.26), se coloca la lámpara de plomo, la cual debe ser alineada, luego se abre el flujo de aire acetileno en relación 1 a 5, se comprueba la sensibilidad del equipo y se inicia la lectura de las muestras, si al momento de la medición se registra un valor fuera del rango se realiza una dilución.



**Figura 3.26:** Lectura de las muestras en el equipo de AA

### 3.4.2 CUANTIFICACIÓN DE PLANTAS GERMINADAS EN SEMILLEROS SIN ADICIÓN DE ABONO

Para la realización de esta prueba se tomaron las plantas germinadas en el semillero del invernadero, las cuales evidencian un crecimiento leve, ya que al momento de la germinación no se realizó la adición de abonos o nutrientes como se muestra en la Figura 3.27; de dichas muestras se realizaron dos muestreos a los 30 y 90 días de exposición en los suelos contaminados con plomo en las diferentes concentraciones.



**Figura 3.27** Plantas de amaranto, alfalfa y acelga crecidas en semillero sin abono

La cuantificación de plomo reportó los siguientes resultados:

### Amaranto

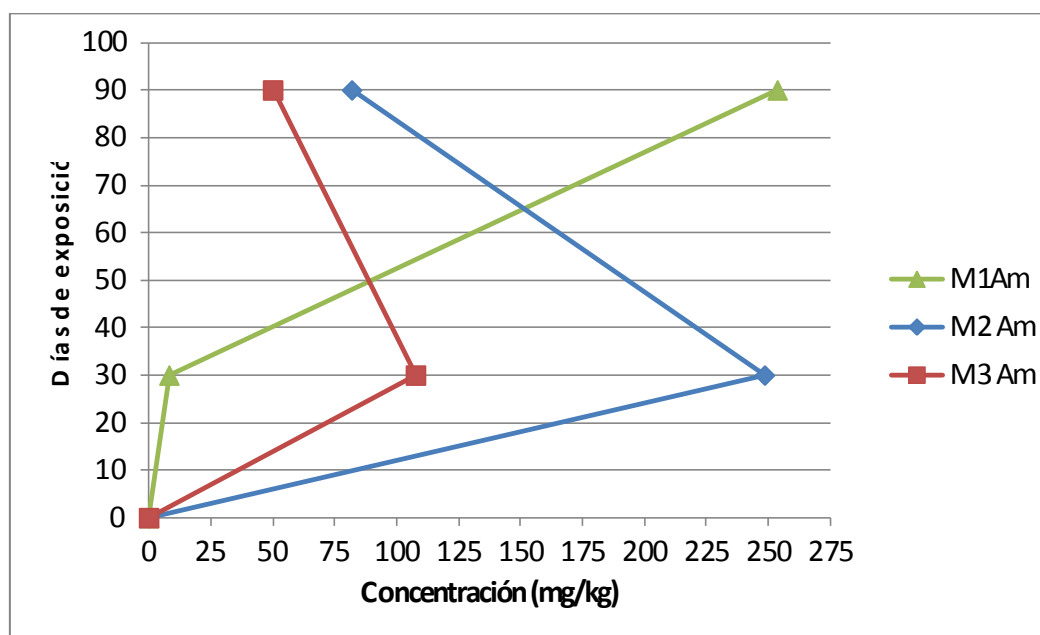
La fitorremediación con amaranto como se muestra en la Tabla 3.3 señala que a los 30 días de exposición en concentraciones medias y altas la absorción de plomo es notable y decrece a los 90 días, este efecto puede deberse a que la planta presentó intoxicación y el mineral fue desechado de la estructura de la planta; además las plantas sembradas en estas concentraciones presentaron afloramiento.

**Tabla 3.3** Concentración de plomo en plantas de amaranto de semillero sin abono

item	C p/p	sin exposición	plantas a los 30 días	plantas a los 90 días
		mg/kg	mg/kg	mg/kg
M1 Am	2,5	0	8,2	253,9
M2 Am	5	0	248,8	82
M3 Am	10	0	107,8	50,1

La Incertidumbre del método se puede ver en el Anexo 4

En el caso de las plantas que se encontraron expuestas a la concentración más baja (M1 Am) se observó un incremento paulatino en la absorción de plomo en la planta como se muestra en la Figura 3.28 y la no presencia de floración.



**Figura 3.28:** Concentración de plomo en plantas de amaranto de semillero sin abono a diferentes días de exposición



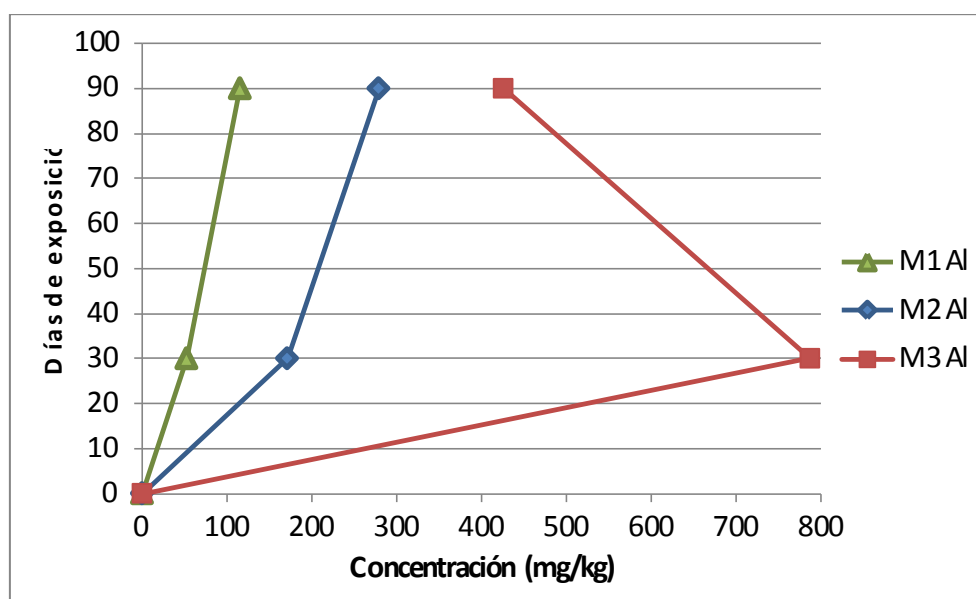
## Alfalfa

La fitorremediación con alfalfa como se muestra en la Tabla 3.4, señala que existe un incremento paulatino en la concentración de plomo en la planta a concentraciones bajas y medias, mientras que existe un decremento cuando la concentración de plomo aumenta como se muestra en la Figura 3.29.

**Tabla 3.4** Concentración de plomo en plantas de alfalfa de semillero sin abono

item	C p/P	sin exposición	plantas a los 30 días	plantas a los 90 días
		mg/kg	mg/kg	mg/kg
M1 AI	2,5	0	52,4	115,4
M2 AI	5	0	171,1	278,9
M3 AI	10	0	787,8	426

La Incertidumbre del método se puede ver en el Anexo 4



**Figura 3.29:** Concentración de plomo en plantas de alfalfa de semillero sin abono a diferentes días de exposición

## Acelga

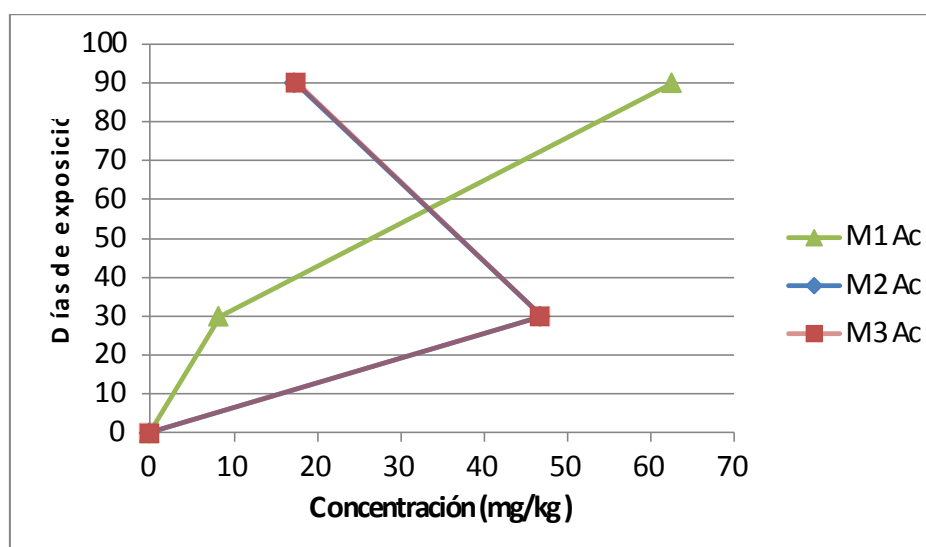
La fitorremediación con acelga como se muestra en la Tabla 3.5, señala a concentraciones bajas existe un incremento paulatino en la concentración de plomo en

la planta, mientras que para concentraciones medias y altas existe una absorción determinada a los 30 días y luego presenta un decremento como se muestra en la Figura 3.30

**Tabla 3.5** Resultados obtenidos de las plantas de acelga sin abono en el semillero

item	C p/p	sin exposición	plantas a los 30 días	plantas a los 90 días
		mg/kg	mg/kg	mg/kg
M1 Ac	2,5	0	8,3	62,7
M2 Ac	5	0	46,9	17,4
M3 Ac	10	0	46,9	17,6

La Incertidumbre del método se puede evidenciar en el Anexo 4



**Figura 3.30** Concentración de plomo en plantas de acelga de semilleros sin abono a diferentes días de exposición

### 3.4.3 CUANTIFICACIÓN DE PLANTAS GERMINADAS CON ABONO

Para esta prueba se utilizó las plantas que se enviaron a germinaron en Pilvixa.

Para la germinación de las mismas se utilizó abono orgánico (estiércol) que aportó nutrientes al suelo. Las plantas presentaron mayor tamaño, rigidez, follaje y sistema radicular más desarrollado. De las plantas utilizadas en la fitorremediación se realizaron tres muestreos a los 20, 45 y 60 días de

exposición en los suelos contaminados con plomo en las diferentes concentraciones.

La cuantificación de plomo reportó los siguientes resultados:

### Amaranto

La fitorremediación con amaranto germinado en presencia de nutrientes como se muestra en la Tabla 3.6, señala que a los 20 días de exposición a cualquier concentración de contaminante la planta absorbe una cierta cantidad de plomo y al pasar los días la planta libera el contaminante. A los 45 días de exposición se presenta un decaimiento en la absorción de plomo, principalmente en las concentraciones M1 Am y M2 Am, mientras que en la muestra con mayor concentración de plomo M3 Am se presenta un leve decrecimiento.

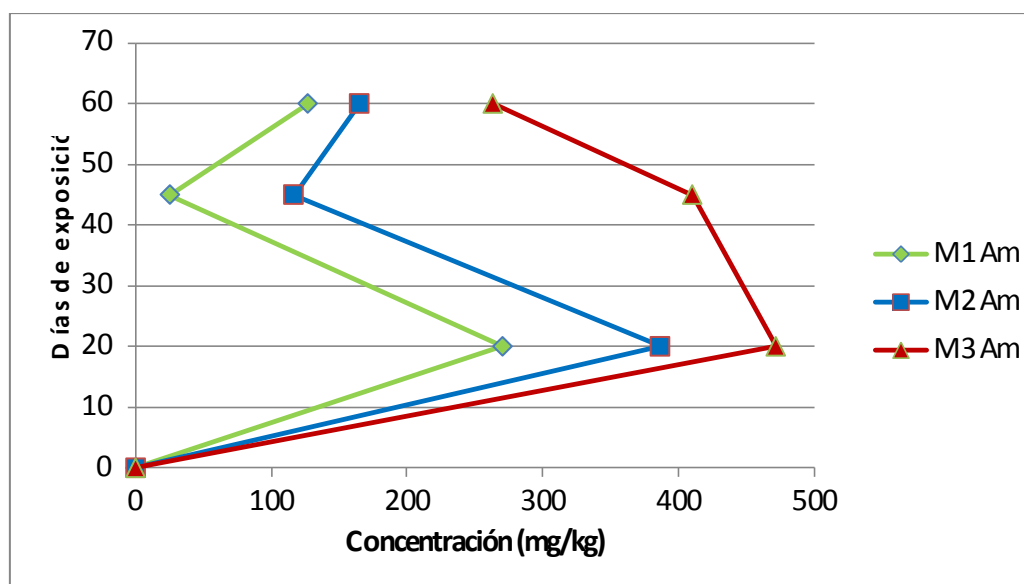
**Tabla 3.6** Resultados obtenidos de las plantas de amaranto con abono en el semillero

item	C p/p	sin exposición	Plantas a los 20 días	plantas a los 45 días	plantas a los 60 días
		mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg
M1 Am	2,5	0	270,6	25,3	126,9
M2 Am	5	0	386,7	116,4	164,9
M3 Am	10	0	472,1	410,5	263,4

La Incertidumbre del método se puede evidenciar en el Anexo 4

Finalmente en el monitoreo realizado a los 60 días de exposición en las muestras de M1 Am y M2 Am, se observa un ligero incremento en el porcentaje de absorción de plomo, en el caso de la muestra M3 Am se sigue la tendencia al decrecimiento de la absorción de plomo como se puede evidenciar en la Figura 3.31





**Figura 3.31:** Concentración de plomo en plantas de amaranto, de semillero con abono a diferentes días de exposición

## Alfalfa

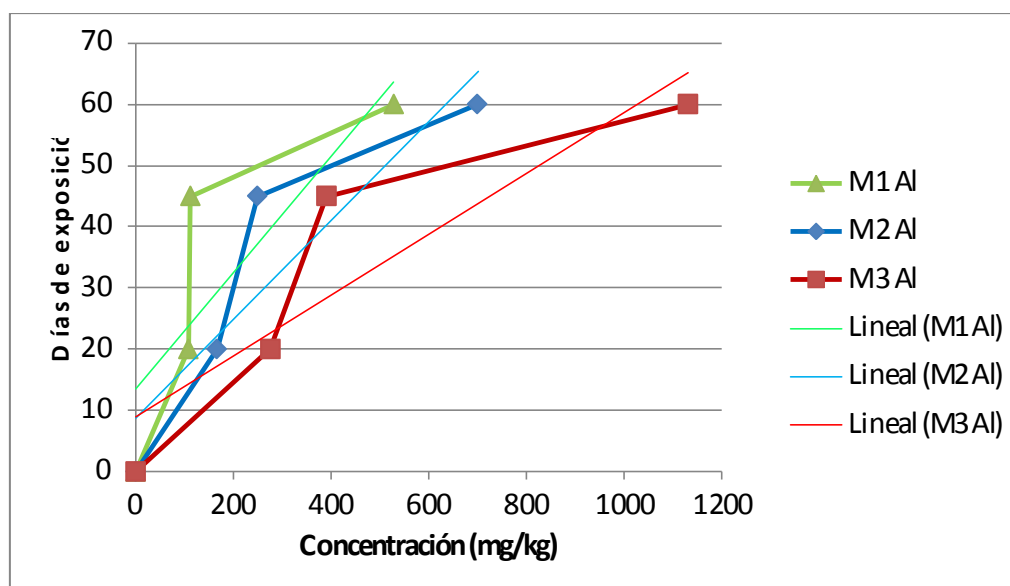
La fitorremediación con alfalfa germinada en presencia de nutrientes como se muestra en la Tabla 3.7, señala que existe un incremento paulatino en la absorción de plomo en la estructura de la planta durante los días de exposición y una absorción progresiva dependiendo de la concentración.

**Tabla 3.7** Resultados obtenidos de las plantas de alfalfa con abono en el semillero

item	C p/p	sin exposición	Plantas a los 20 días	plantas a los 45 días	plantas a los 60 días
		mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg
M1 AI	2,5	0	108	112,2	528,7
M2 AI	5	0	166	249,1	699,5
M3 AI	10	0	276,1	390,9	1131,2

La Incertidumbre del método se puede evidenciar en el Anexo 4

Finalmente a los 60 días de exposición se continúa con la tendencia a incrementar la cantidad de plomo absorbida por la planta y almacenada en sus tejidos como se observa en la Figura 3.32



**Figura 3.32** Resultados obtenidos de la Alfalfa con abono

## Acelga

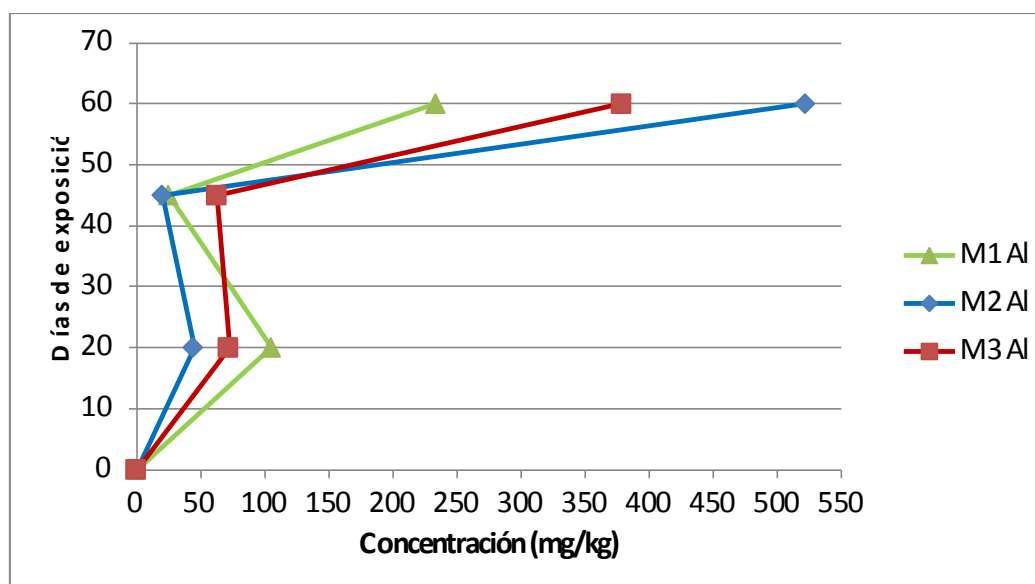
La fitorremediación con acelga germinada en presencia de nutrientes como se muestra en la Tabla 3.8, señala que a los 20 días de exposición se presenta absorción de plomo en las plantas expuestas a las diferentes concentraciones de suelo contaminado y a los 45 días se presenta una disminución en la cantidad de plomo que absorbieron las plantas.

**Tabla 3.8** Resultados obtenidos de las plantas de acelga con abono en el semillero

item	C p/p	sin exposición	Plantas a los 20 días	plantas a los 45 días	plantas a los 60 días
		mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg
M1 Ac	2,5	0	105,5	25,4	234,1
M2 Ac	5	0	44,6	20,4	522,7
M3 Ac	10	0	72,1	63	379,1

La Incertidumbre del método se puede ver en el Anexo 4

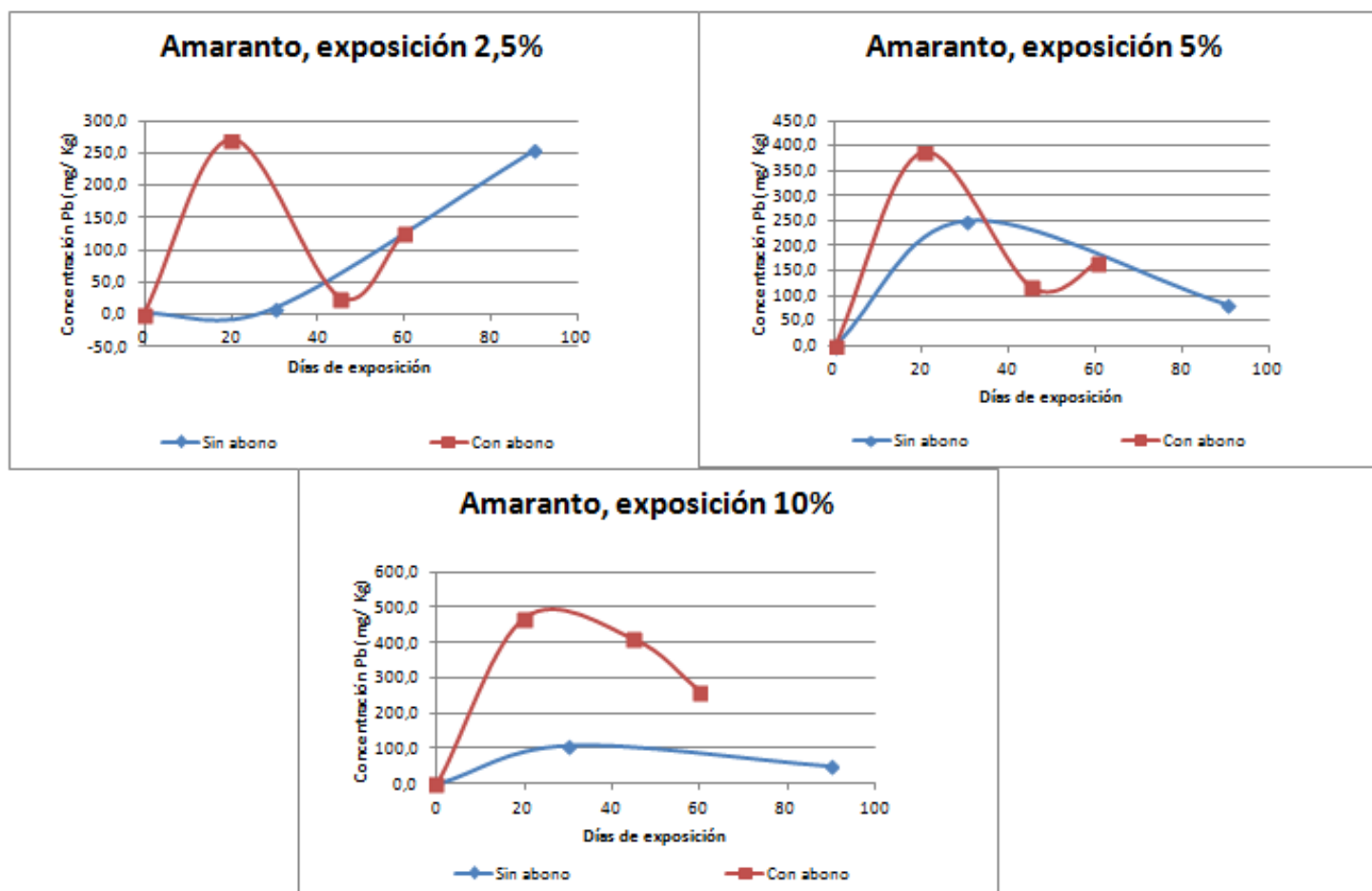
Finalmente a los 60 días de exposición se muestra un incremento en la cantidad de plomo absorbido por las plantas expuestas a las diferentes concentraciones de suelo contaminado como se muestra en la Figura 3.33.



**Figura 3.33:** Resultados obtenidos de la Acelga con abono

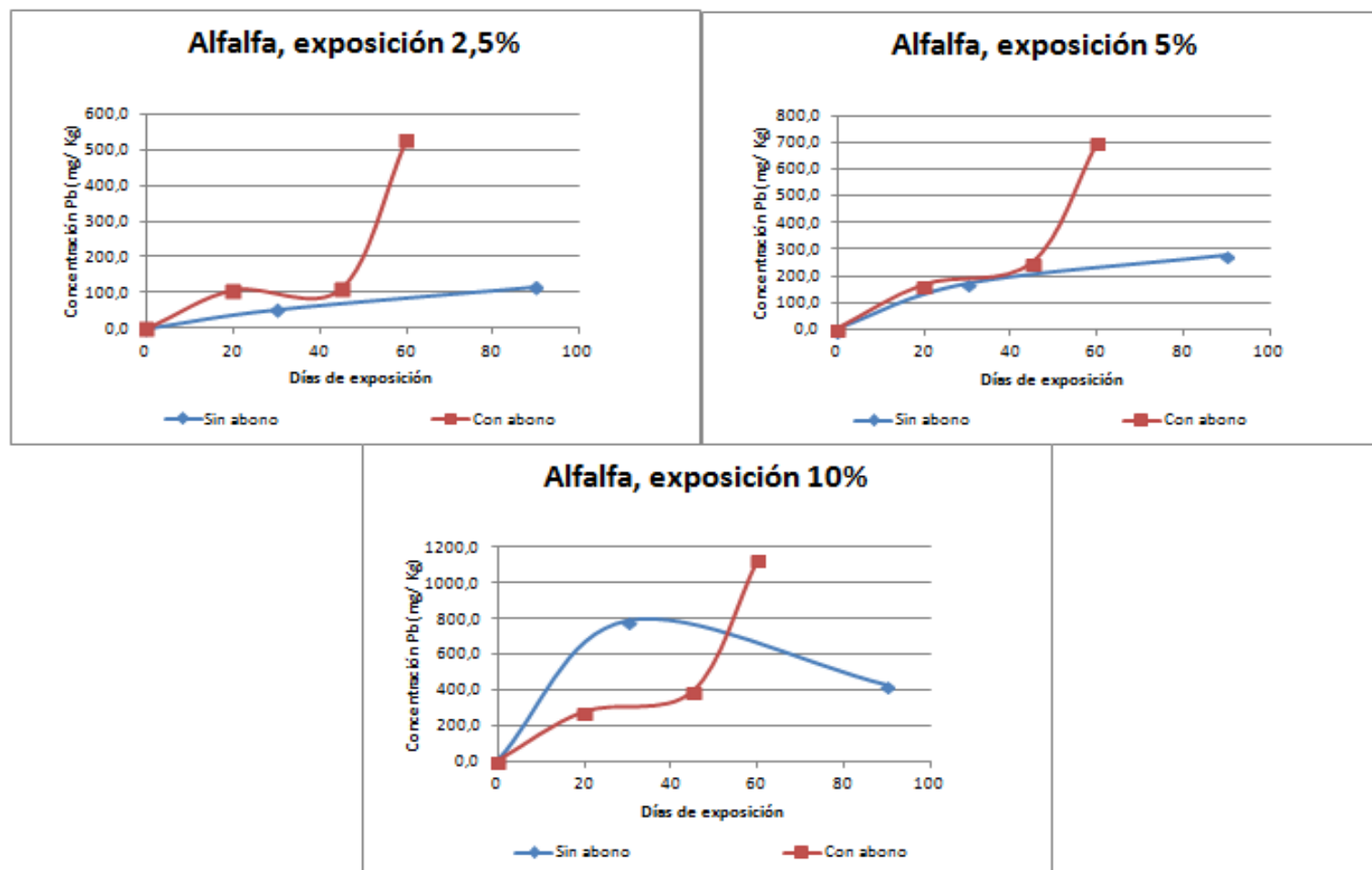
La Figura 3.34, muestran la concentración de plomo absorbido por las diferentes plantas en estudio durante varios días de exposición. Las tres variedades de plantas en estudio que fueron expuestas a abono orgánico durante la germinación en semillero presentaron mayor absorción que las plantas que no tuvieron adición de ningún tipo de abono, quedando comprobado lo expuesto por Agudelo, Macías y Suárez, 2009, que señala que la absorción de metales pesados en las plantas, dependerá de la biomasa que esta contenga, por tanto a mayor biomasa mayor es el porcentaje de absorción de contaminante.

El amaranto expuesto a diferentes concentraciones de contaminación por plomo como se muestra en la Figura 3.34, presenta una máxima concentración de absorción a los 20 días de exposición, luego un decaimiento de absorción a los 45 días y una recuperación de absorción a los 60 días; este efecto sugiere que el amaranto absorbe una cierta cantidad de contaminante en un periodo de tiempo, y luego la planta presenta un proceso de desintoxicación, por tanto el monitoreo de absorción de plomo debería controlarse continuamente hasta tener un máximo en la concentración para que el proceso de fitorremediación sea efectivo.

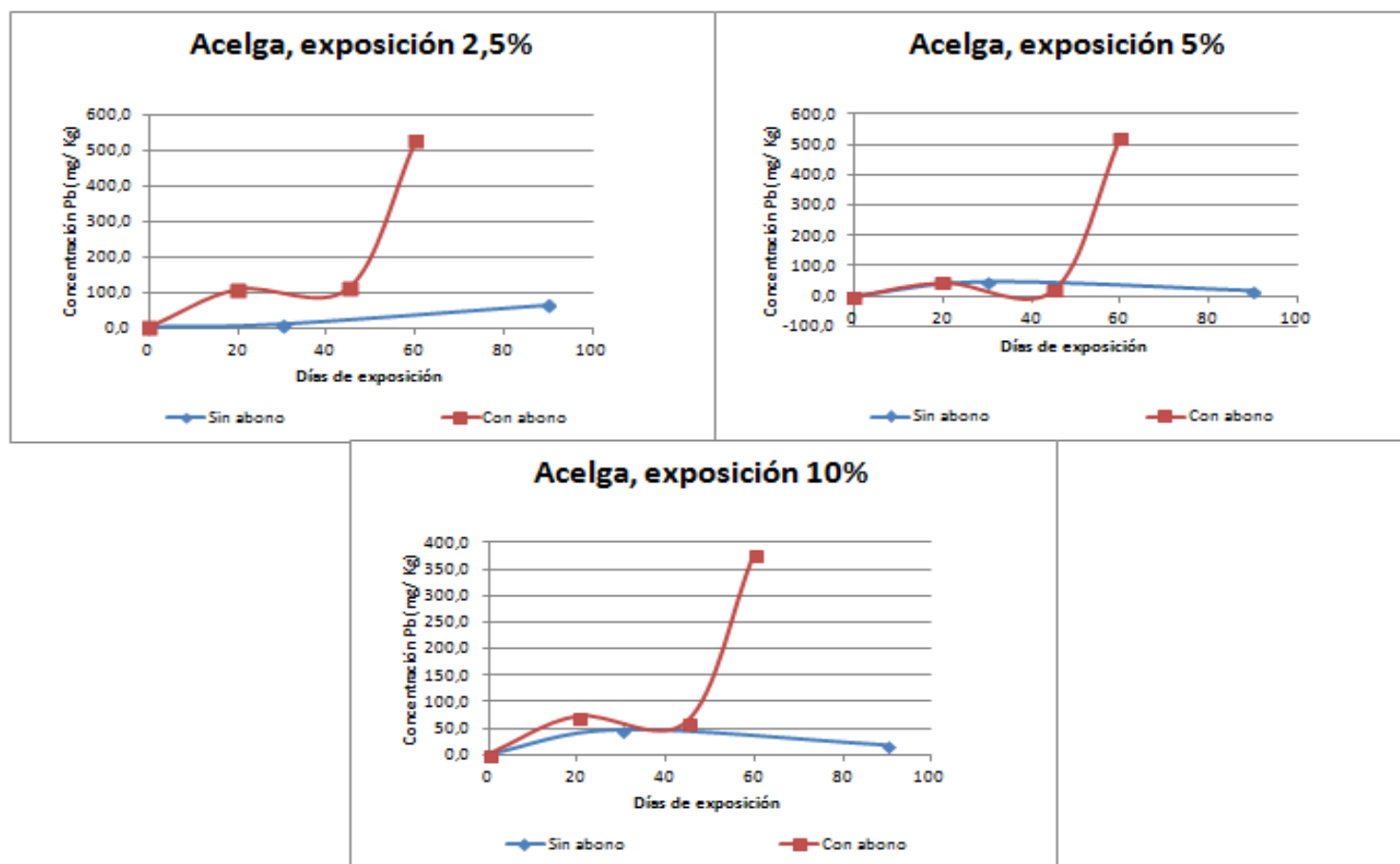


**Figura 3.34:** Exposición de amaranto a suelos contaminados con Pb, con y sin adición de abono

La alfalfa expuesta a diferentes concentraciones de contaminación por plomo como se muestra en la Figura 3.35, presenta un proceso de absorción continuo llegando a valores de 1131 mg/Kg de materia húmeda en plantas que fueron germinadas en presencia de abono a los 60 días de exposición; este efecto se repite en las plantas de acelga como se muestra en la Figura 3.36, llegando a concentraciones de plomo absorbido de 529 mg/Kg de materia húmeda a los 60 días de exposición.



**Figura 3.35:** Exposición de alfalfa a suelos contaminados con Pb, con y sin adición de abono

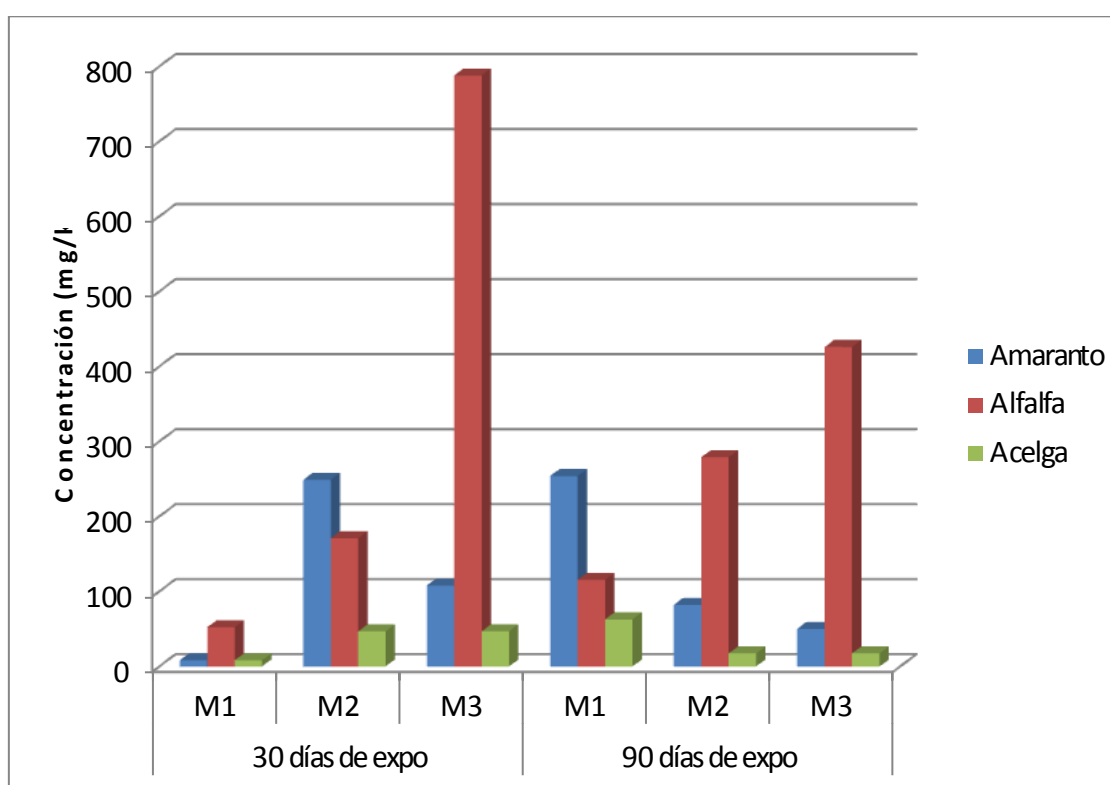


**Figura 3.36:** Exposición de acelga a suelos contaminados con Pb, con y sin adición de abono

La exposición de las plantas germinadas en ausencia de abono a suelos contaminados con Pb a concentraciones bajas, como se muestra en la Figura 3.37, presenta un incremento paulatino durante el transcurso del tiempo de exposición sin presentar saturación en la planta; mientras que en concentraciones medias y altas las tres variedades presentan saturación del contaminante en la planta y la liberación del contaminante luego de los 30 días de exposición.

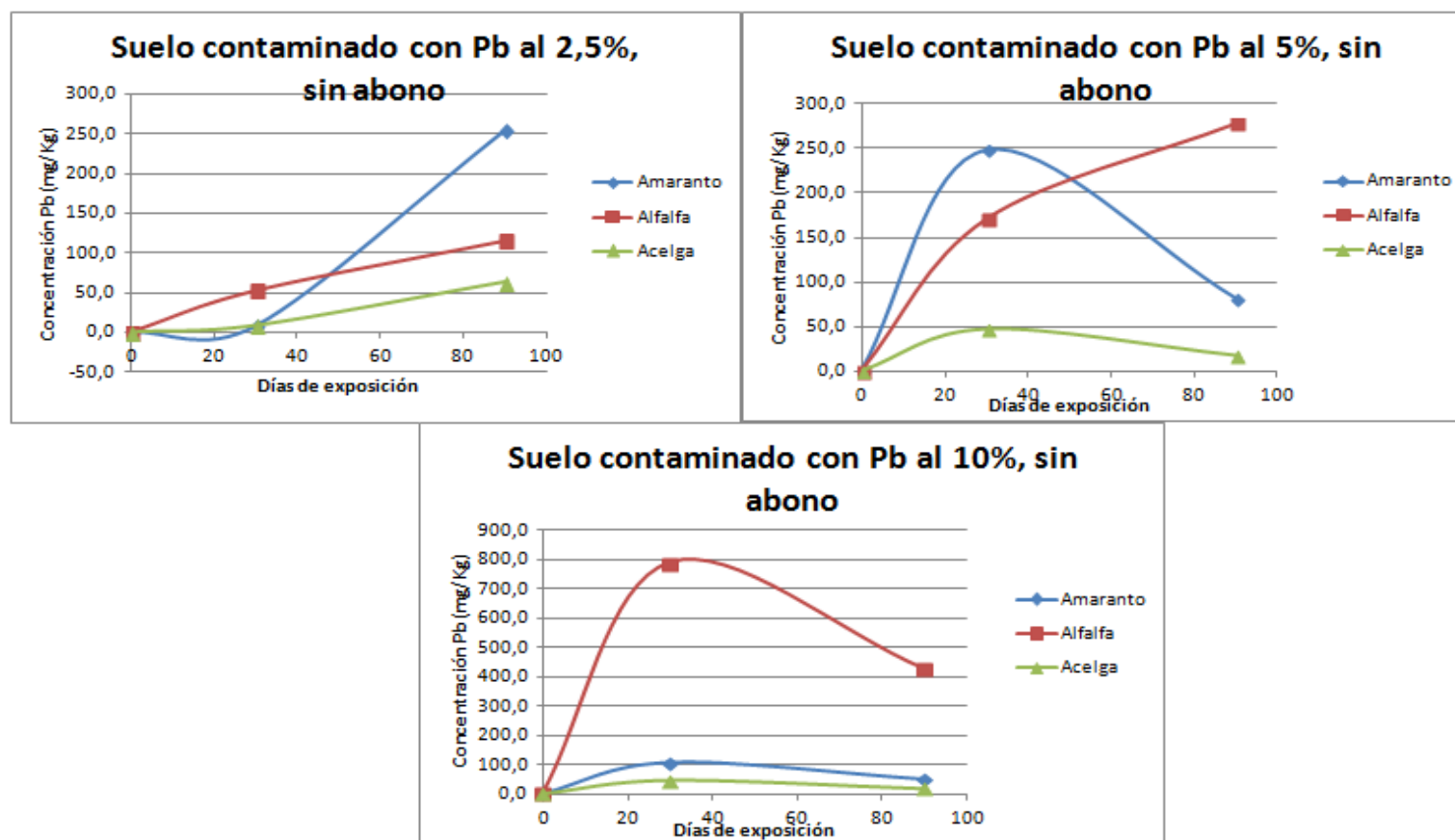
En la prueba sin abono en el semillero como se muestra en la Figura 3.38, se puede observar a la alfalfa como especie sobresaliente. En el monitoreo realizado a los 30 días de exposición se evidencia una mejor actuación del amaranto en tiempos cortos de exposición. A los 90 días de exposición se denota la capacidad de la alfalfa para actuar en las diferentes concentraciones y a mayor tiempo de exposición.

En el caso de la acelga se mantiene una absorción constante a lo largo de la prueba.



**Figura 3.38** Comparación de plantas sin abono a diferentes concentraciones de contaminación en función de los días de exposición





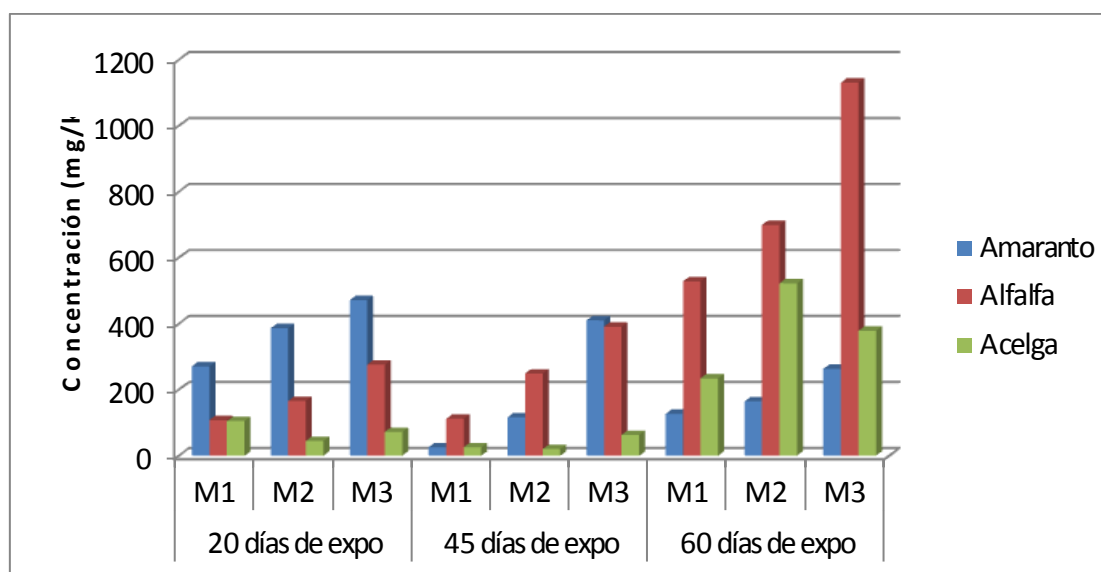
**Figura 3.37:** Plantas expuestas a diferentes concentraciones de contaminación con Pb, sin presencia de abono

La fitorremediación de suelos con plantas germinadas con abono, como se muestra en la Figura 3.39, presenta mayores absorciones de metal a los 20 días de exposición para el amaranto, mientras que al transcurrir el tiempo la alfalfa y la acelga presentan mayores valores de absorción, por lo que se necesitaría realizar tres cultivos consecutivos de amaranto para obtener la absorción de metal producida por la alfalfa y la acelga

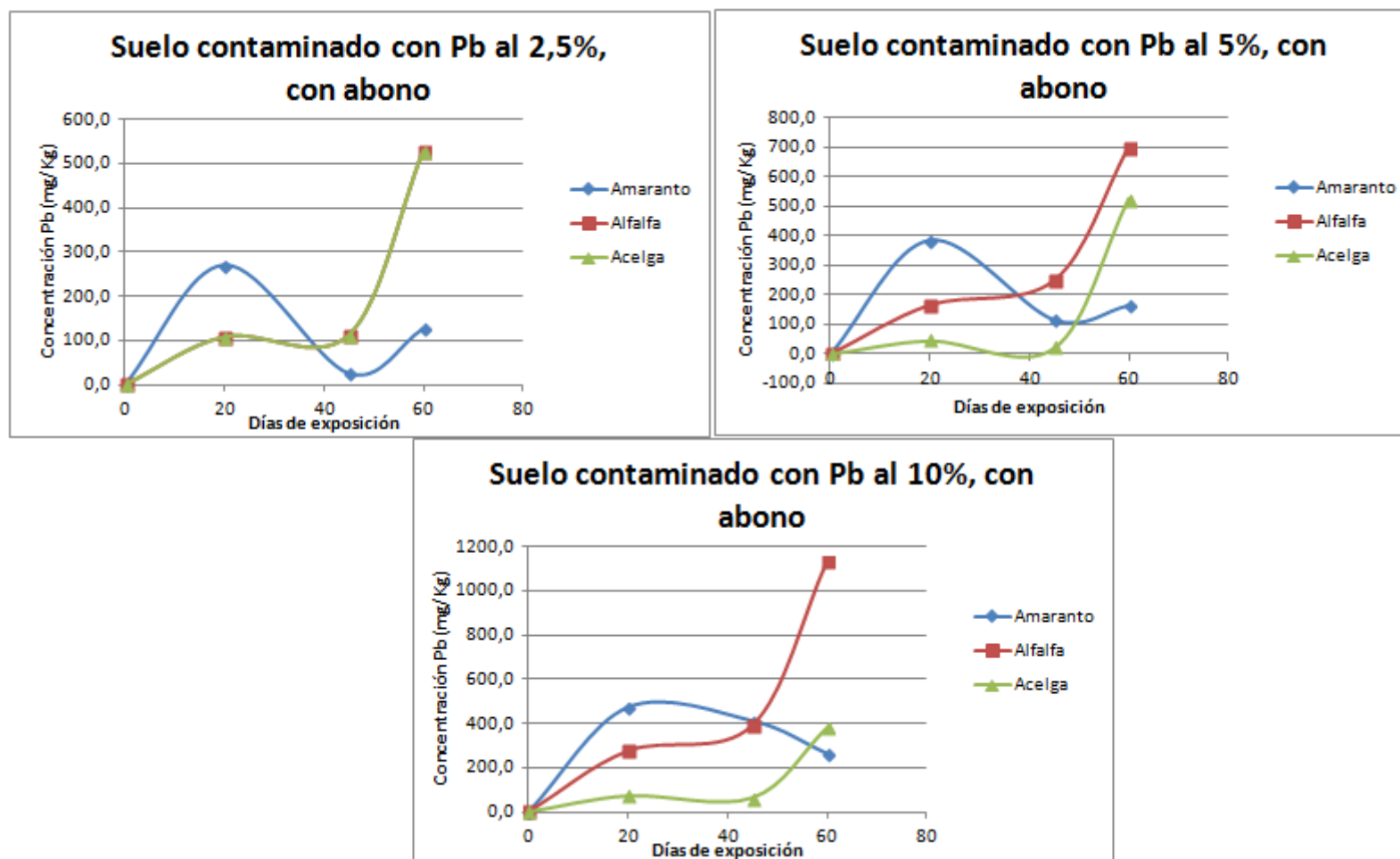
A los 20 días de exposición el amaranto es la especie que demuestra mayor capacidad para absorber plomo en ese tiempo de exposición, seguido de la alfalfa y la acelga, esta última con una menor cantidad de absorción.

A los 45 días de exposición se presenta una variación en la forma de absorción de las especies, en donde el amaranto decrece en la capacidad de absorber el plomo y la alfalfa aumenta su porcentaje de absorción, mientras que la acelga mantiene su porcentaje de absorción.

A los 60 días de exposición las plantas de alfalfa muestran una gran capacidad para absorber plomo en mayor cantidad. Las plantas de amaranto continúan con su tendencia al decrecimiento en la cantidad de absorción de plomo, siendo esta especie la que presenta menor cantidad de absorción en este monitoreo y las plantas de acelga presentan un aumento en su capacidad de absorción de plomo como se muestra en la Figura 3.40.



**Figura 3.40** Comparación de plantas con abono a diferentes concentraciones de contaminación en función de los días de exposición



**Figura 3.39:** Plantas expuestas a diferentes concentraciones de contaminación con Pb, con presencia de abono

### 3.5 ANÁLISIS DE SUELOS REMEDIADOS

En esta etapa se procedió a determinar el porcentaje de absorción de cada una de las especies utilizadas.

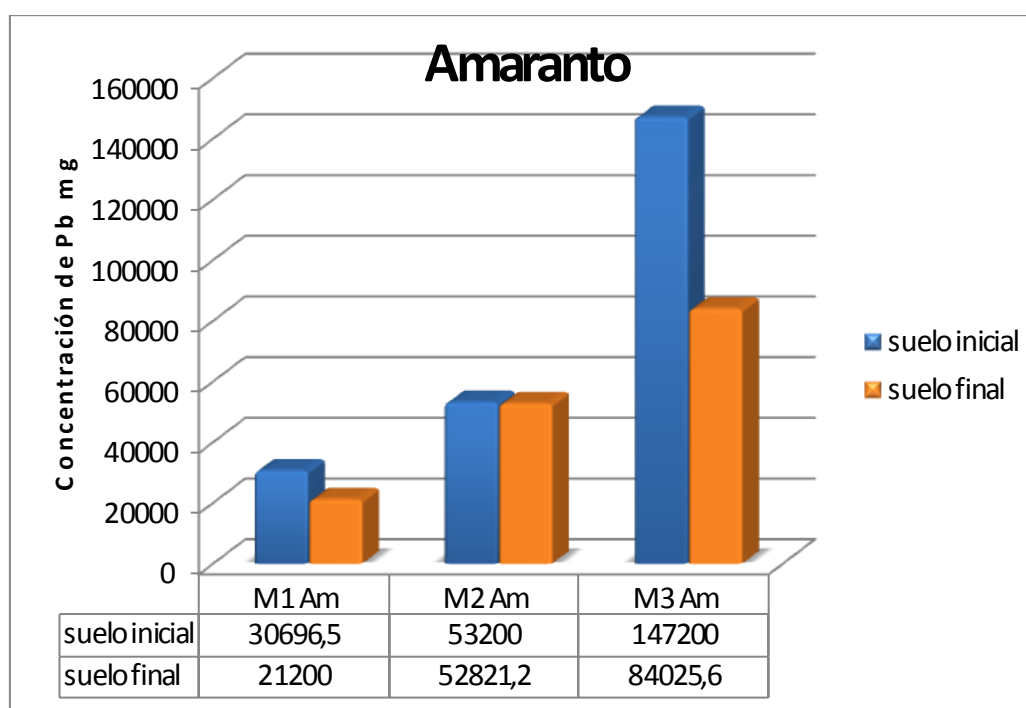
Se comparó el suelo inicial contaminada con el suelo final luego del proceso de fitorremediación, para calcular el porcentaje de absorción se utilizó la siguiente fórmula.

$$\% \text{ de absorción} = \frac{\text{suelo inicial} - \text{suelo final}}{\text{suelo inicial}} \times 100$$

Obteniendo los siguientes resultados.

#### Amaranto

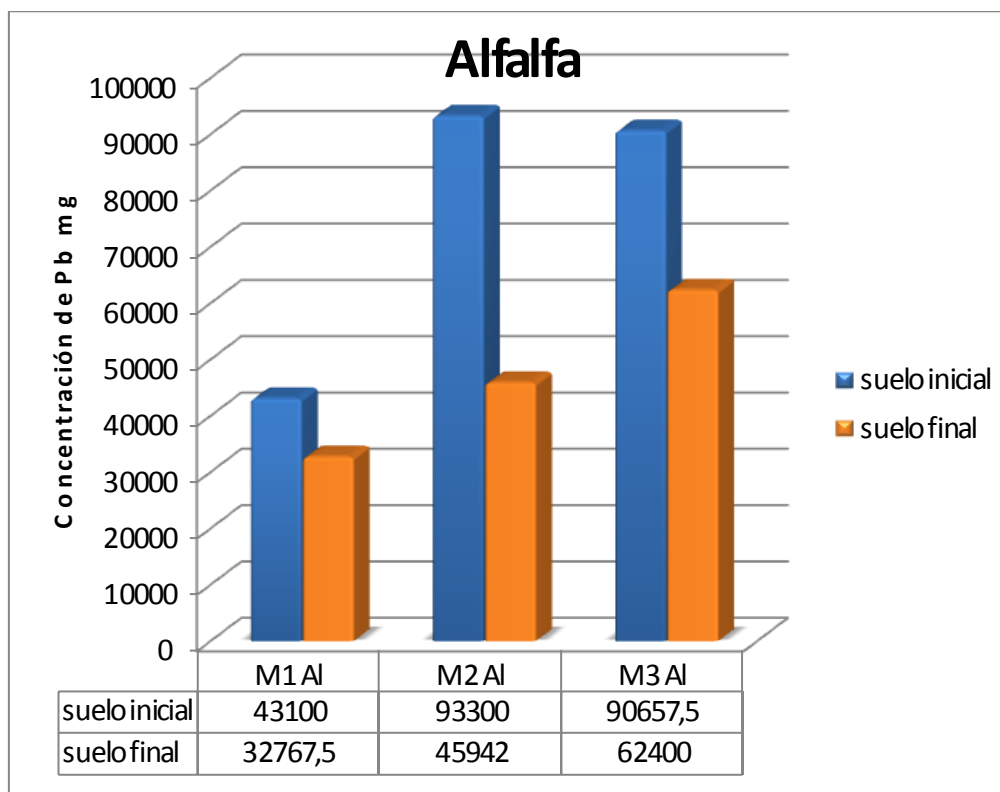
La mayor absorción se dio en la concentración mayor M3 Am con un 42,92% de absorción de plomo en las plantas, seguida de M1 Am con un 30,94% y un ligero porcentaje de absorción en M2 Am con un 0,71% como muestra la Figura 3.41



**Figura 3.41:** Resultados de Absorción del Amaranto

## Alfalfa

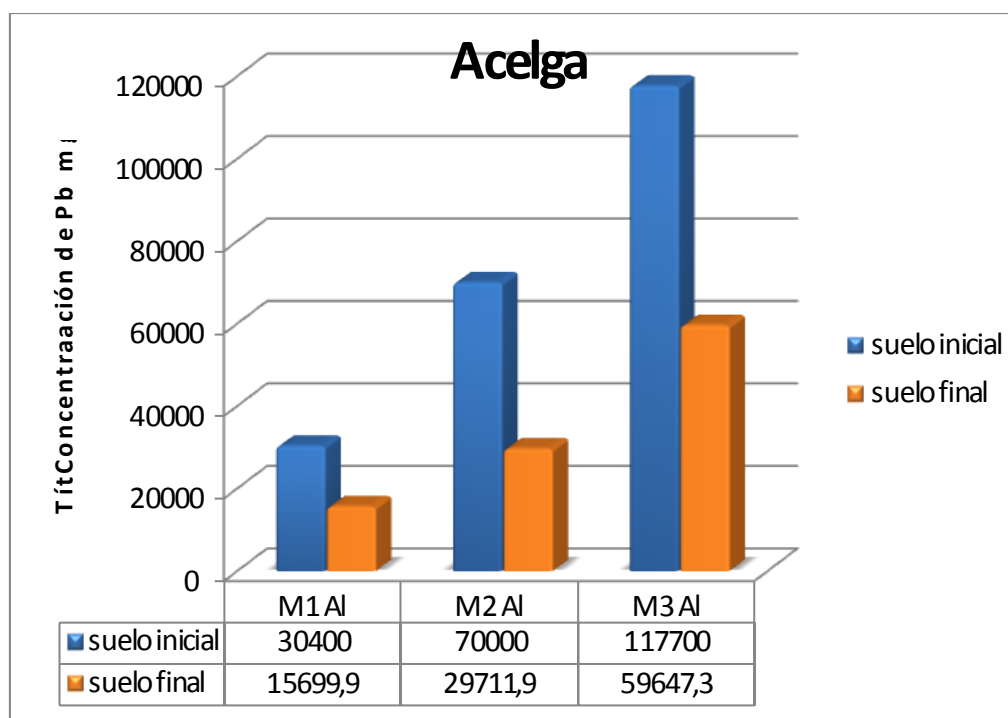
La mayor absorción se dio en la concentración media M2 Al con un 50,76%, seguida de M3 Al con un 31,17% y una absorción de 23,97% en M1 Al, como se muestra en la Figura 3.42



**Figura 3.42:** Resultados de Absorción de la Alfalfa

## Acelga

La mayor absorción se tiene en la concentración media M2 Al con un 57,55%, seguida de M3 Al con 49,52% y una absorción de 48,36% en M1 Al, como se muestra en la Figura 3.43



**Figura 3.43** Resultados de Absorción de la Acelga

En la Tabla 3.9, se muestra los porcentajes de absorción de Pb reportando valores máximos de recuperación del contaminante para la acelga.

**Tabla 3.9:** Porcentajes de absorción de Pb en suelos

Plantas	Porcentaje de recuperación de Pb		
	M1	M2	M3
Amaranto	30,94	0,71	42,92
Alfalfa	23,97	50,76	31,17
Acelga	48,36	57,55	49,52

Los porcentajes de recuperación ayudaron a determinar el número de cultivos que se necesitan para alcanzar las concentraciones establecidas por la Tabla 3, Anexo 2, libro 6 del TULSMA (100 mg/Kg) como se muestra en la Tabla 3.10, al realizar el promedio de los resultados obtenidos, para suelos muy contaminados se requiere un promedio de 3 cultivos sucesivos para cumplir la norma, mientras que para suelos con baja concentración de contaminantes se

requiere un promedio de 4 cultivos y para concentraciones medias un promedio de 2 cultivos.

**Tabla 3.10:** Cultivos necesarios para cumplir con la norma

Plantas	Número de cultivos necesarios para cumplir con la norma		
	M1	M2	M3
Amaranto	4		3
Alfalfa	5	2	4
Acelga	3	2	3

## CAPÍTULO IV

### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 4.1 CONCLUSIONES

- Las concentraciones analizadas de plomo en suelos contaminados presentaron valores superiores al límite de cuantificación del método (5 mg/Kg), por tanto no existió la necesidad de cambiar la metodología de espectrometría de absorción atómica con sistema de flama seleccionado para la cuantificación.
- Las especies Amaranthus hybridus (amaranto), Medicago sativa (alfalfa) y Beta vulgaris var. cicla (acelga) presentan la capacidad de acumular plomo en sus tejidos, al estar expuesta en suelos contaminados con este metal.
- La capacidad de hiper-acumulación que presentan las especies Amaranthus hybridus y Medicago sativa se presentan a medida que aumenta el tamaño y edad de la planta, lo que hace que estas especies presenten un potencial para la remediación de suelos contaminados con plomo.
- La especie Beta vulgaris var. cicla no presenta las propiedades de hiper-acumuladora, pero conserva la característica de acumular plomo en sus tejidos, presentando una toxicidad considerable para la salud de las personas o animales al consumir esta especie vegetal.
- Las especies que se germinaron utilizando abono, presentaron mayor cantidad de absorción de plomo comparadas con las especies que se germinaron sin la utilización de abono.



- La adición de abono o nutrientes previo a la germinación de las especies, es un factor determinante para la fitorremediación, ya que esto ayuda a que las plantas presenten abundante sistema radicular, un mayor crecimiento, frondosidad de la planta, mejores características al momento de su trasplante al suelo contaminado generando mayores concentraciones de absorción de plomo.
- El contenido de plomo en el suelo disminuyó debido al proceso de fitorremediación, necesitando un promedio de 3 cultivos para cumplir los límites máximos permisibles para los criterios de restauración o remediación de suelos contaminados establecidos en la Tabla 3, Anexo 2, libro 6 del TULSMA.
- El proceso de fitorremediación es una técnica relativamente nueva en el país y económicamente rentable, especialmente porque se puede trabajar con especies menores de ciclo corto.
- El plomo puede ser estabilizado en los tejidos de las especies en estudio, para su disposición final estas especies vegetales se pueden cosechar y confinar, evitando así que el plomo se encuentre expuesto a los factores ambientales como precipitaciones y viento, evitando que el mismo se disperse en áreas que puedan afectar de forma directa o indirecta a la población.

## 4.2 RECOMENDACIONES

- Para un correcto proceso de fitorremediación es necesario conocer las características físicas y químicas del suelo (pH, permeabilidad, contenido de materia orgánica, etc ), además del origen de la contaminación, para realizar una correcta selección de las especies a utilizar, para que estas se adapten a las condiciones del suelo a remediar.
- Realizar el proyecto in situ, para analizar el comportamiento de absorción de las especies en diferentes condiciones.
- Realizar los monitoreos de forma mas continua para determinar el punto máximo de absorción de cada una de las especies utilizadas en el proceso de fitorremediación.
- Es recomendable realizar repeticiones del proceso de fitorremediación hasta alcanzar los límites máximos permisibles según la normativa ambiental vigente.
- Al momento de escoger las especies a utilizar se debe tomar en cuenta las condiciones del área de estudio (temperatura, humedad, etc), en las que se va a realizar la remediación y de preferencia utilizar plantas de la zona.

## BIBLIOGRAFÍA

- Abollino, O., Aceto, M., Malandrino, M., Mentaste, E., Sarzanini, C., & Barberis, R. (2002). Distribution and Mobility of Metals in Contaminated Sites. *Chemometric Investigation of Pollutant Profiles. Environmental Pollution*, 177.
- Agudelo, L., Macias, K., & Suárez, A. (2009). Fitorremediación: la alternativa para absorber metales pesados de los biosólidos. *Red Revista Lasallista*, 6.
- Baker AJM, B. (1989). *Terrestrial higher plants which hyper-accumulate metallic elements- a review of their ecology*. Biorecovery.
- Banks, M. K., & Schwab, A. (1993). The Benefits of Vegetation in the Bioremediation of Hydrocarbons. *Magazine. Air and Waste Management*.
- Barid, C. (2004). *Química ambiental*. España: Reverté S.A.
- Barrios, B., Alatorre, R., Calyecac, H., & Bautista, N. (2004). Identificación y fluctuación poblacional de plagas de col (*Brassica oleracea* var. capitata) y sus enemigos naturales en Acatzingo, Puebla. *Agrociencia. Institución de enseñanza e investigación en ciencias agrícolas*, 12.
- Bautista, F. (2000). *Introducción al estudio de la contaminación del suelo por metales pesados*. México: Universidad Autónoma de Yucatán.
- Bureau-Veritas. (2008). *Manual para la formación en medio ambiente*. España: Lex Nova S.A.
- Castillo, F. (2005). *Biotecnología ambiental*. Madrid: Tébar S.L.
- Cruz, M., & Guzmán, A. (2007). *La contaminación de suelos y aguas. Su prevención con nuevas sustancias naturales*. España: Universidad de Sevilla.
- Cunnighgham, S., Berti, W., & Huang, J. (1995). Phytoremediation of contaminated soil. *Trends in Biotech*, 393 - 397.

- Diez, J. (2003). *Fitocorrección de suelos contaminados con metales pesados: evaluación de plantas tolerantes y optimización del proceso mediante prácticas agronómicas*. Universidad de Santiago de Compostela.
- Diez, J., Kidd, P., & Monterroso, C. (2009). Biodisponibilidad de metales en suelos y acumulación en plantas en el área de Trás-os-Montes (NE Portugal): influencia del material original. *Sociedad española de la Ciencia del suelo*, 17.
- García, I., & Dorronsoro, C. (2005). *Contaminación por Metales Pesados, En Tecnología de Suelos*. Universidad de Granada. Departamento de Edafología y Química Agrícola.
- Guerrero, A. (1999). *Cultivos herbáceos extensivos*. España: Grupo Mundi-Prensa.
- Guerrero, M., & Herrera, J. (1994). La germinación de *Sesbania emerus* (Fabaceae): efecto de la inmersión en ácido sulfúrico. *Revista de Biología tropical*, 461-466.
- H.F, W., & J, R. (2005). *Análisis Químico e Industrial Moderno*. Reverté.
- Han, F. B. (2003). New Approach to Studies of Heavy Metal Redistribution in Soil. *Advances in Environmental Research*, 113 - 120.
- Harvery, P. J., campanella B, F., L, C. P., H, H., E, L, R, S. A., & Sureek, S. a - R. (2002). Phytoremediation of Polyaromatic Hydrocarbons Anilines and phenols. *Environmental Science and Pollution*, 29 - 47.
- Huang, C. P. (1999). Environmental Soil Chemistry and Human Welfare. 14º *Congreso Latinoamericano de la Ciencia del Suelo*. Temuco. Chile: Sociedad Chilena de la Ciencia del Suelo.
- López, E., & Torija, E. (2006). Caracterización y tipificación de mostazas comerciales. *Universidad Complutense de Madrid*, 304.
- López, M., & Espinosa, A. (2006). El cultivo de maíz en México y la contribución del fitomejorador para favorecer la autosuficiencia. *Revista mexicana de agronegocios. Universidad Autónoma de la Laguna*, 596 - 607.

- Maqueda, A. P. (2003). *Fitorremediación de suelos contaminados con metales pesados. Teis de Opción a Maestría en Biotecnología. Departamento de Química y Biología*. Cholupa, Puebla, Mexico: Universidad de las Américas.
- Martin, C. W. (2000). *Heavy Metals Trends in Floodplain Sediments and Valley Fill*.
- Martínez, A., Lee, R., Chaparro, D., & Páramo, S. (2003). *Postcosecha y mercado de hortalizas de clima frío bajo prácticas de producción sostenible*. Bogotá: Fundación Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano.
- Mateo, J. (2008). *Prontuario de agricultura: cultivos agrícolas*. España: Mundi-Prensa.
- Nedelkoska, T., & Doran, P. M. (2000). Characteristics of heavy metal uptake by plant species with potencial for phytoremediation and phytomining. *Minerals Engineer*, 13 (5): 549-561.
- Oxford University. (2004). *Atomic spectroscopy in analytical chemistry*.
- Peralta, E. (2009). *Amaranto y Ataco preguntas y respuestas. Programa Nacional de Leguminosas y Grananos Andinos INIAP*, 4.
- Pineda, H. (2004). *Presencia de Hongos Micorrízicos Arbusculares Contribución de Glomus Intraradices en la Absorción y Translocación de Cinc y Cobre en Girasol (Helianthus Annuus L.) Crecido en un Suelo Contaminado con Residuos de Mina*. Tecoman. Colima: Universidad de Colima. Tesis para Obteneer el Grado de Doctor en Ciencias .
- Puga, S., Sosa, M., Lebgue, T., Quintana, C., & Campos, A. (2006). Contaminación por Metales Pesados en el Suelo Provocado por la Industria Minera. *Ecología Aplicada*, 149 - 155.
- Rodríguez, R., García, A., & Rodríguez, R. (2006). *Los residuos minero-metalúrgicos en el medio ambiente*. España: Instituto geológico y minero de España. Serie Medio ambiente N° 11 .

- Rodríguez-Ortíz, J., Valdez-Cepeda, R., Lara-Mireles, J., Rodríguez-Fuentes, H., Vázquez-Alvarado, R., Magallanes-Quintanar, R., & García-Hernandez, J. (2006). *Soil nitrogen fertilization effect on phytoextraction of Cd and Pb by tobacco (Nicotiana tabacum)* *Bioremediation Journal*.
- Ruda, E., Mongiello, A., & Acosta, A. (2004). Contaminación y salud del suelo. En E. Ruda, A. Mongiello, & A. Acosta, *Contaminación y salud del suelo* (pág. 41). Argentina: Centro de tecnología educativa aplicada. Facultad de Ingeniería Química, UNL.
- Salas, M., & Boradonenko, A. (2009). Insectos asociados al amaranto *amaranthus hupocondriacus* L. (amaranthaceae) en Irapuato, Guanajuato, México. *Universidad de Guanajuato*, 7.
- Sauquillo, A. R. (2003). Overview of the use of Leaching / Extraction Tests for Risk Assessment of Metals in Contaminated Soil and Sediments. *Trends in Analytical Chemistry*, 152 - 159.
- Sauve, S. W., & Henderson, a. H. (2000). *Solid-Solution Partitioning of Metals in Contaminated Soils: Dependence on pH. Total Metal Burden, and Organic Matter*, *Environ. Sci. Technol.*
- TULSMA Anexo 1, I. 6. (s.f.). *Norma de calidad ambiental y de descarga de efluentes: recurso agua.*
- TULSMA Anexo 6, L. 6. (s.f.). *Norma de calidad ambiental para el manejo y disposición de desechos sólidos no peligrosos.*
- TULSMA Libro IV, A. 2. (s.f.). *Norma de calidad ambiental del recurso suelo y criterios de remediación para ssuelos contaminados.*
- Volke, T., Velasco, J., & Pérez, D. (2005). *Suelos contaminados por metales y metaloides: Muestreo y alternativas para su remediación*. Instituto Nacional de ecología. Secretaría de medio ambiente y recursos naturales.
- Walto, H. F., & Reyes, J. (2005). *Análisis Químico e Instrumental Moderno*. Reverté.

- Watt, M., & Evans, J. (1999). Proteoid roots physiology and development. *Plant Physiol*, 121, 317 - 323.
- Wenzel, W. D. (1999). *Phytoremediation: A plant-microbe-based remediation system*. Madison: American Society of Agronomy.